Université du Québec à Montréal

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

En cotutelle internationale avec
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC A MONTRÉAL, CANADA
Mention Psychologie

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Biologie et Sciences de la Santé

Ecole doctorale Vie-Agro-Santé

présentée par

Chloé CARTIER

préparée à l'unité de recherche INSERM 1085 IRSET
Institut de recherche en santé, environnement travail
Département de psychologie, UQAM

Etude de l'impact de l'exposition prénatale aux insecticides organochlorés et organophosphorés sur le développement des fonctions cognitives et sensorielles d'enfants d'âge scolaire

Thèse soutenue à Montréal le 30 mars 2017

devant le jury composé de :

Jonathan CHEVRIER
Professeur, McGill / *rapporteur*

Florence BODEAU-LIVINEC
Professeur, EHESP Rennes / *rapporteur*

Luc MULTIGNIER NOM
Professeur, Rennes 1 / *examinateur*

Isabelle SOULIERES
Professeur, UQAM / *examinateur*

Dave SAINT AMOUR
Professeur, UQAM/ *directeur de thèse*

Cécile CHEVRIER
Chargée de recherche, Rennes 1 / *co-directeur de thèse*

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ET

UNIVERSITÉ RENNES 1

ÉTUDE DE L'IMPACT DE L'EXPOSITION PRÉNATALE AUX INSECTICIDES ORGANOCHLORÉS ET ORGANOPHOSPHORÉS SUR LE DÉVELOPPEMENT DES FONCTIONS COGNITIVES ET SENSORIELLES D'ENFANTS D' ÂGE SCOLAIRE

THÈSE
PRÉSENTÉE EN COTUTELLE
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DU DOCTORAT EN PSYCHOLOGIE

PAR
CHLOÉ CARTIER

AVRIL 2017

REMERCIEMENTS

Mon doctorat s'est principalement déroulé au Québec ce qui m'a permi de découvrir et même de tomber en amour avec ce beau pays, sa culture et ses habitants. Ce travail a été enrichi de magnifiques rencontres et de belles aventures. Il n'aurait été possible sans l'aide et le soutien ou tout simplement la présence de nombreuses personnes qui y ont contribué de près comme de loin.

Je tiens à remercier tout particulièrement mes deux directeurs de m'avoir encadrée dans ce travail. Cécile et Dave, merci à tous les deux pour tout le temps que vous m'avez consacré, pour votre patience, vos conseils et vos encouragements.

Cécile j'ai malheureusement passé peu de temps à Rennes mais je te remercie d'avoir tout fait pour que mes séjours se passent toujours au mieux, l'accueil et l'ambiance étaient au top. Merci tout particulièrement pour ta patience, pour ton soutien, tes conseils avisés et ton aide précieuse tout au long de ce travail.

Dave je te suis infiniment reconnaissante pour toute la confiance que tu as placée en moi durant ces 5 années de doctorat, et ce avant même que je n'intègre officiellement ton labo. Je te remercie pour la grande liberté que tu m'as laissée dans mon travail, et pour l'incroyable disponibilité dont tu fais preuve à mon égard ainsi que pour chacun de tes étudiants. Merci Dave du fond du coeur pour ton écoute, ta bienveillance, et le soutien que tu m'as apporté pendant les épreuves que j'ai traversées.

Gina je voudrais en profiter pour te remercier de m'avoir recommandée à Dave et m'avoir orientée vers cette thèse. Merci également pour la confiance que tu m'as accordée au Nunavik et pour la façon bienveillante dont tu veilles sur les étudiants.

A l'équipe du Nunavik, Caro, Renee, Odette, un grand merci pour cette incroyable aventure que nous avons partagée, une équipe en or, trois séjours inuit que je ne pourrais oublier avec son lot de rencontres, de découvertes et bien sûr d'imprévus ! J'ai hâte de vous revoir, pourquoi pas pour courir encore une fois en crampons sous un ciel d'aurores boréales.

Merci aux copains du labo pour tous ces bons moments passés ensemble au cours de cette thèse ! Je garde d'incroyables souvenirs avec chacun d'entre vous et il serait bien trop long de tous les énumérer. Quelle chance d'avoir pu travailler dans de si bonnes conditions. Un clin d'œil plus particulier à ceux avec qui j'ai passé le plus de temps au cours de mon cheminement, Claudia, Laurie-Anne, Audrey, Louis (mon seul ami chasseur!) et bien sûr Diana. L'ambiance qui règne dans notre labo est incroyable je suis trop heureuse d'avoir pu faire partie de cette belle équipe et d'avoir partagé avec vous une si belle énergie. Merci à vous tous d'avoir rendu cette thèse possible.

Merci au labo de Rennes, à Charline, Florence, Mélanie, Fabienne, Nathalie, et Sylvaine pour l'accueil chaleureux que vous m'avez réservé. Mon passage à Rennes a malheureusement été bref mais je suis très contente d'avoir pu faire quelques temps parti de votre équipe. Merci à toutes pour votre grande gentillesse.

Aux copains du Québec, Justine, Simon, Ioanna, Marie-André, Catherine, Mathieu, Morgane, François, merci pour tous ces bons moments et toutes les folles aventures qu'on a vécu ensemble. Les sorties raquettes, baleines, ski de fond, escalade, les rando, les soirées jeux, ou juste les bons moments à être ensemble et à rigoler. On va continuer de se voir, c'est sûr!

A tous les copains en France que je ne vais pas lister mais qui se reconnaitront je vous remercie d'être toujours là malgré avec les années qui passent, 25 ans

d'amitié bientôt pour certains ce n'est pas rien! Un merci tout particulier à Laurence, Justine, Max et Gao, vous êtes géniaux.

Evidemment je remercie toute ma famille, tontons, tantes, grands parents, cousins, cousines pour leur soutien et leur présence si précieuse. Merci tout particulièrement à vous Papa et Maman de nous avoir toujours entourées de votre protection, amour, confiance et encouragements. Nous sommes chanceuses de pouvoir découvrir, voir et faire tant de choses grâce à vous.

Papa tu nous a appris à toujours aller au bout des choses mais surtout fait grandir avec cette philosophie que tout est toujours possible, le goût du défi et du dépassement de soi. Ces valeurs que tu nous as transmises nous aident à avancer même dans les moments les plus durs. Merci pour l'inspiration que tu es pour Eline et moi au quotidien. Merci Papa de t'être battu avec tant de courage, de détermination, de force et d'espoir, merci pour ce beau sourire qui ne t'a jamais quitté.

Merci Maman et Linou de garder votre énergie positive malgré les épreuves si douloureuses. Votre dynamisme, bonne humeur et volonté sans faille me portent et m'aide à tenir, que serais je sans vous à mes côtés. Je vous aime.

Et bien sûr des remerciements pleins d'amour à toi Boris pour m'avoir supportée, conseillée, encouragée et soutenue. Merci de n'avoir jamais arrêter de croire en moi tout au long de ce travail.

DÉDICACE

A mon grand père Robert

A toi papa qui me manque tant

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS ii

LISTE DES FIGURES ix

LISTE DES TABLEAUX x

LISTE DES ABRÉVIATIONS xi

RÉSUMÉ xiii

CHAPITRE I

INTRODUCTION 1

1.1. Le cerveau en développement 2

1.1.1. Développement et maturation du SNC 2

1.1.2. Vulnérabilité du cerveau en développement 5

1.1.3. Troubles du neurodéveloppement 5

1.1.4. Substances chimiques et troubles du neurodéveloppement 9

1.2. Insecticides 9

1.2.1. Définition 9

1.2.2. Insecticides organochlorés 10

1.2.3. Insecticides organophosphorés 13

1.2.4. Mode d'action 13

1.2.5. Neurotoxicité 14

1.2.6. Exposition des populations 15

1.3. OC et neurodéveloppement 17

1.4. OP et neurodéveloppement 20

1.5. Objectifs 25

1.5.1. Problématique 1 25

1.5.2. Problématique 2 26

1.5.3. Problématique 3 28

CHAPITRE II

ARTICLE 1 - PRENATAL AND 5-YEAR P,P'-DDE EXPOSURES ARE ASSOCIATED WITH ALTERED SENSORY PROCESSING IN SCHOOL-

AGED CHILDREN IN NUNAVIK : A VISUAL EVOKED POTENTIAL STUDY 29
2.1. Abstract 32
2.2. Introduction 33
2.3. Methods 36
2.3.1 Participants 36
2.3.2. Visual Evoked Potentials 37
2.3.3 Biological measures 38
2.3.4 Confounding factors 40
2.3.5 Statistical analysis 40
2.4. Results 42
2.4.1 Contaminants and nutrient exposures 43
2.4.2 Associations of p,p'-DDT and p,p'-DDE exposure with VEP 44
2.5. Discussion 45
2.6. Acknowledgements 50
2.7. References 52

CHAPITRE III
ARTICLE 2 – ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDE METABOLITES IN PRENATAL AND CHILDHOOD URINE SAMPLES AND INTELLIGENCE SCORES AT 6 YEARS OF AGE : RESULTS FROM THE MOTHER-CHILD PELAGIE COHORT (FRANCE) 69
3.1. Abstract 72
3.2. Introduction 74
3.3. Methods 75
3.3.1. Population and study area 75
3.3.2. Measurements of OP exposure 77
3.3.3. Neuropsychological assessment and questionnaires 78
3.3.4. Potential covariables 79
3.3.5. Statistical analysis 80
3.4. Results 81

3.5. Discussion 85
3.6. Conclusion 89
3.7. References 90

CHAPITRE IV
ARTICLE 3 – CHILDREN CONTRAST SENSITIVITY FUNCTION IN RELATION TO ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDE PRENATAL EXPOSURE IN THE MOTHER-CHILD PELAGIE COHORT 114
4.1. Abstract 117
4.2. Introduction 118
4.3. Materiel and methods 119
4.3.1. Population and study area 119
4.3.2. Measurements of OP exposure 120
4.3.3. Functional Acuity Contrast Test 122
4.3.4. Potential covariates 123
4.3.5. Statistical analysis 123
4.4. Results 124
4.5. Discussion 126
4.6. References 130

CHAPITRE V
DISCUSSION 142
5.1. Résumé des résultats principaux 143
5.1.1. Synthèse de l'article 1 143
5.1.2. Synthèse de l'article 2 144
5.1.3. Synthèse de l'article 3 145
5.2. Discussion générale 145
5.2.1. OC et fonctions visuelles 145
5.2.2. OP et fonctions cognitives 148
5.2.3. OP et fonctions visuelles 152
5.3. Limites 154
5.3.1. Mesure de l'exposition aux OP 154

5.3.2. Prise en compte des effets cocktail 156
5.4. Perspectives 157
5.4.1. Etudes épidémiologiques sur les risques neurodéveloppementaux de l'exposition à des niveaux communs de pesticides 157
5.4.2. Généralisation de l'emploi des méthodes d'évaluation de la neurotoxicité sensorielle 158
5.4.3. Mesures de santé publique 159
5.4.4. Modifications des comportements individuels 161
5.5. Conclusion 162
REFERENCES 164

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Formation du tube neural à partir de l'ectoderme 2
Figure 1.2 Vésicules primaires et développement cérébral in utéro 3
Figure 1.3 Processus de développement cérébral durant les périodes pré et postnatales 4
Figure 1.4 Effet d'une baisse de QI de 5 points sur la population 8
Figure 1.5 Bioaccumulation des organochlorés dans la chaine alimentaire 11
Figure 1.6 Transport des organochlorés vers les pôles 12
Figure 2.1 Scatterplots relating cord and 5-year p,p'-DDE exposures to the VEP 64
Figure 3.S1 Spline regressions for studying the associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores 112
Figure 3.S1 Spline regressions for studying the associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores 113

LISTE DES TABLEAUX

Table 2.1 Descriptive statistics of the participants 65
Table 2.2 Intercorrelations among contaminants in cord and 11-year plasma samples 66
Table 2.3 Descriptive statistics for the biological samples 67
Table 2.4 Regression coefficients of p,p'-DDT and p,p'-DDE after adjustment for confounding variables 68
Table 3.1 Descriptive characteristics of the participants 97
Table 3.2 Age-standardized WISC-IV scores of 6-year-old children 98
Table 3.3 Quantification frequency and median molar concentrations of nonspecific organophosphate metabolites in urine samples among all values 99
Table 3.4 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores 100
Table 3.5 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores 102
Table 3.S1 Descriptive characteristics assessed at inclusion in the cohort of the families participating and not participating in the 6-year neuropsychological follow-up 104
Table 3.S2 Univariate analyses for studying the association between WISC scores of 6-year-old children and covariates 105
Table 3.S3 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores with minimal adjustment 107
Table 3.S3 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores with minimal adjustment 108
Table 3.S5 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores among participants with complete data 109
Table 3.S6 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores among participants with complet data 110
Table 3.S7 Prenatal urinary organophosphate metabolite concentrations (in nmol/L) across cohorts addressing the potential role of exposure to organophosphate insecticides during pregnancy on neurodevelopment. 111
Table 4.1 Descriptive characteristics of the participants 137
Table 4.2 Quantification frequency and median molar concentrations of nonspecific organophosphate metabolites in urine samples 138
Table 4.3 Descriptive characteristics of FACT scores 139
Table 4.4 Associations between prenatal urinary metabolites and FACT scores 140
Table 4.S1 Associations between 6-years urinary metabolites and FACT scores 141

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Termes français

DAP	Dialkylphosphate
DDE	Dichlorodiphényltrichloroethylène
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
QI	Quotient intellectuel
OC	Insecticide organochloré
OP	Insecticide organophosphoré
PEV	Potentiel évoqué visuel
PON1	Paraoxonase 1
POP	Polluant organique persistant
SNC	Système nerveux central
SNP	Système nerveux périphérique
TDAH	Trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité
TED	Trouble envahissant du développement

Termes anglais

BSID-II	Bayley Scales of Infant Developpement II
CBCL	Child Behavior Checklist
CHAMACOS	Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas
CDC	Centers for Disease Control and Prevention

DOHaD	Developmental Origins of Health and Disease
FACT	Functional acuity contrast test
HOME study	Health Outcomes and Measures of the Environment Study
K-CPT	Conners' Kiddie Continuous Performance Test
MSCA	McCarthy Scales of Children's Abilities
NNNS	NICU Network Neurobehavioral Scale
WISC	Weschler Scales of Intelligence for Children
WPPSI	Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence

RÉSUMÉ

L'objectif principal de la thèse était d'étudier les associations entre l'exposition pendant la grossesse à différentes classes d'insecticides et le développement des fonctions cognitives et visuelles d'enfants d'âge scolaire issus de deux cohortes.

Les Inuit sont de par leur lieu et mode de vie fortement exposés aux pesticides organochlorés notamment au DDT et à son métabolite principal, le DDE. La littérature scientifique rapporte des effets délétères de l'exposition prénatale à ces molécules sur le développement des fonctions cognitives des enfants. Aucune étude ne s'est intéressée aux conséquences de l'exposition in utéro au DDT et au DDE sur le développement des fonctions sensorielles des enfants. Le premier objectif de cette thèse était donc d'évaluer si l'exposition prénatale à ces molécules pouvait être associée aux fonctions visuelles des enfants Inuit. Le DDT et le DDE ont été mesurés dans le cordon ombilical ainsi que dans le sang des enfants à 5 et 11 ans. Les potentiels évoqués visuels des enfants ont été enregistrés à 11 ans. Des analyses de régressions multiples ont révélé une augmentation de l'amplitude de la composante N150 en lien avec les niveaux de DDE mesurés dans le cordon ombilical ainsi qu'une diminution de l'amplitude de la N75 en lien avec les concentrations sériques de DDE mesurées à 5 ans. Ces données suggèrent que l'exposition périnatale au DDE pourrait avoir un impact sur l'intégrité des fonctions visuelles des enfants.

La seconde partie de la thèse portait sur les pesticides organophosphorés dont l'usage a remplacé celui des organochlorés dès les années 1970. Différentes études réalisées aux Etts-Unis ont montré que l'exposition prénatale à ces molécules pouvait altérer les fonctions cognitives des enfants. Le second objectif du présent travail était donc d'évaluer si l'exposition aux organophosphorés pouvait être associée aux fonctions cognitives d'enfants issus de la population générale en France. Les métabolites communs aux organophosphorés ont été mesurés dans les urines des mamans durant la grossesse (i.e. DAP, DM et DE). Le WISC a été administré aux enfants à 6 ans par une neuropsychologue afin d'obtenir deux indices de développement cognitif, un indice de mémoire de travail et un indice de compréhension verbale. Les analyses de régression multiple réalisées n'ont pas permis de mettre en évidence d'association entre les DAP mesurés dans les urines des mamans durant la grossesse et les fonctions cognitives des enfants. A l'inverse les niveau urinaires de DE ont été associés à de meilleurs scores de compréhension verbale. Ces données suggèrent que certaines populations pourraient être plus vulnérables que d'autres aux propriétés de neurotoxicité développementale des pesticides organophosphorés.

Du fait de l'exposition commune aux pesticides organophosphorés il parait important de mieux caractériser les conséquences neuro-développementale de l'exposition prénatale à ces molécules. L'étude de l'intégrité des processus visuels peut parfois permettre de mettre en évidence des altérations neuro-développementales non décelables avec les outils standards d'évaluation neuropsychologique. Le troisième objectif du présent travail était donc d'évaluer si l'exposition prénatale aux pesticides organophosphorés pouvait être associée aux fonctions visuelles des enfants issus de la population générale en France. Des analyses de régression multiple ont permis de mettre en relation les niveaux urinaires de DAP, DM et DE mesurés chez les mamans durant la grossesse et les scores de sensibilité au contraste obtenus chez les enfants à 6 ans à l'aide du Functional Acuity Contrast Test. Bien qu'aucune association significative ne soit mise en évidence chez l'ensemble des sujets, de plus faibles scores sont obtenus chez les garçons en lien avec les niveaux urinaires de DE mesurés durant la grossesse. Ces données suggèrent que l'exposition prénatale aux organophosphorés pourrait influencer le développement des fonctions visuelles des enfants et plus particulièrement des garçons.

MOTS-CLÉS : Pesticides organochlorés, pesticides organophosphorés, exposition prénatale, neurotoxicité développementale, neurotoxicité sensorielle

CHAPITRE I
INTRODUCTION

1.1. Le cerveau en développement

1.1.1. Développement et maturation du SNC

Le développement du système nerveux central (SNC) s'initie très tôt au cours de l'embryogénèse. Dès la 2ieme semaine de vie gestationnelle la plaque neurale se forme à partir des cellules du tissu ectodermal (Kolb et Whishaw, 2001) (figure 1.1). Cette plaque s'épaissit et ses bords se rapprochent ensuite graduellement pour former la gouttière neurale puis le tube neural qui donnera progressivement naissance à la moelle épinière et au cerveau (figure 1.1).

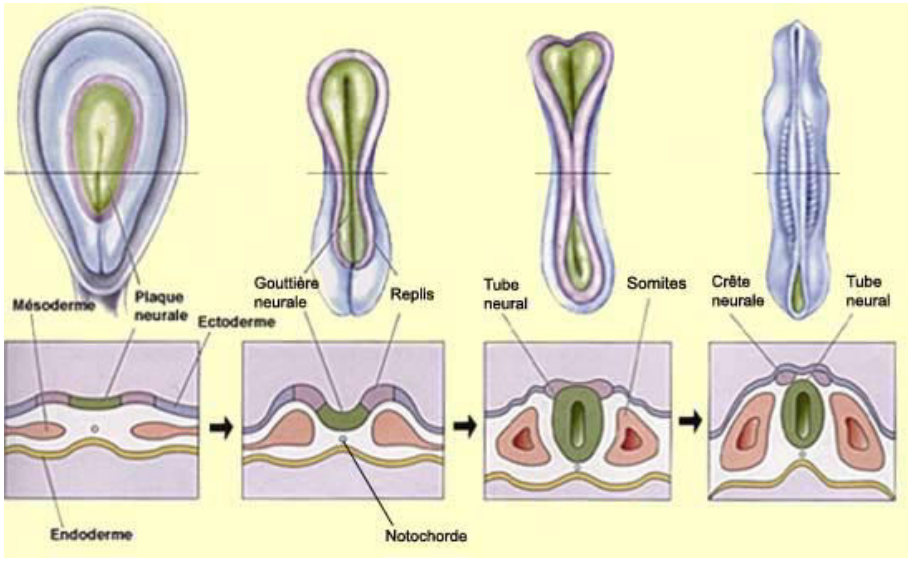


Figure 1.1 Formation du tube neural à partir de l'ectoderme (Université McGill)

Lors de la 4e semaine gestationnelle, le tube neural s'incurve et se divise en trois renflements qui seront à l'origine du prosencéphale ou cerveau antérieur (futurs

hémisphères cérébraux, hypothalamus, thalamus, hypophyse, glande pinéale, rétine), du mésencéphale ou cerveau moyen (futurs tegmentum, colliculi supérieurs et inférieurs) et du rhombencéphale ou cerveau postérieur (futurs protubérance, cervelet et bulbe rachidien) (Kolb et Whishaw, 2001). La partie restante du tube neural deviendra quant à elle la moelle épinière (figure 1.2).

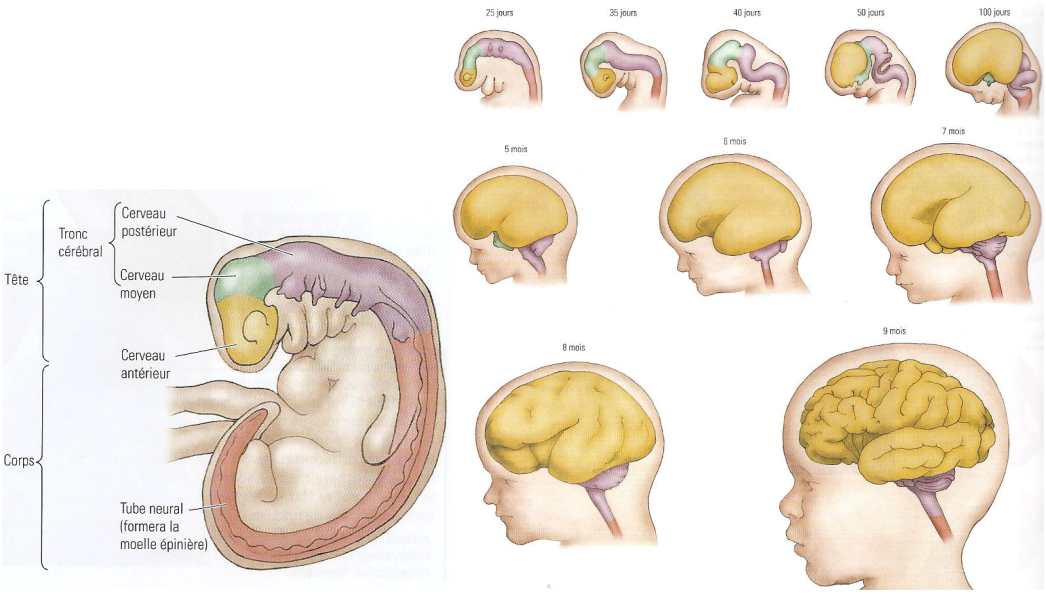


Figure 1.2 Vésicules primaires et développement cérébral in utéro (Kolb et Whishaw, 2001)

Des signaux intrinsèques et extrinsèques orchestrent les étapes clefs de ce développement selon des fenêtres de temps critiques et ordonnées : prolifération cellulaire, différenciation des cellules en cellules spécifiques du SNC, migration cellulaire dans les zones adéquates du SNC, formation des synapses, apoptose afin d'éliminer les connexions non nécessaires et myélinisation (Rice et Barone, 2000).

Ces étapes cruciales du développement cérébral diffèrent spatialement et temporellement selon les zones du cerveau (Miodovnik, 2011). Elles se poursuivent jusqu'à l'adolescence et aboutissent à la formation d'un cerveau mature constitué de milliard de cellules spécifiquement interconnectées (figure 1.3). Des altérations de ces processus peuvent résulter en des anomalies structurelles ou fonctionnelles importantes du SNC, qui sont dépendantes de la fenêtre de temps critique durant laquelle elles occurrent (Miodovnik, 2011).

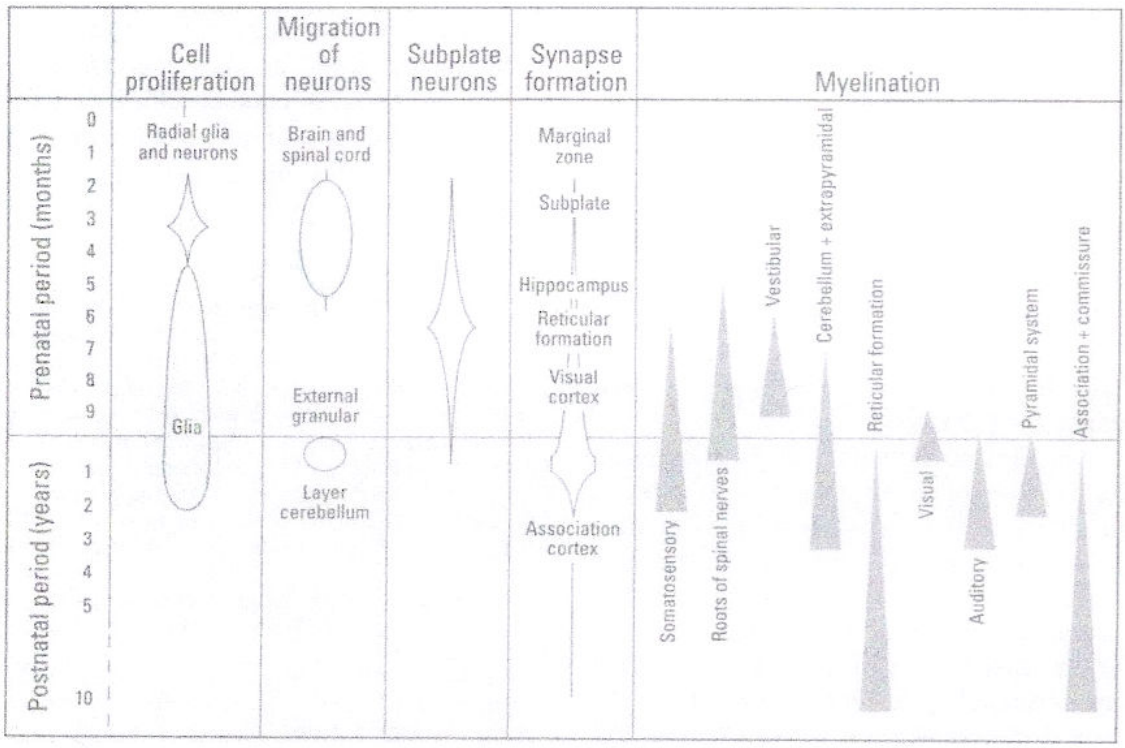


Figure 1.3 Processus de développement cérébral durant les périodes pré et postnatales (Rice et Barone, 2000)

1.1.2. Vulnérabilité du cerveau en développement

Le cerveau en développement est particulièrement vulnérable en comparaison avec le cerveau adulte (Grandjean et Landrigan, 2006; Rice et Barone, 2000). De nombreuses études expérimentales et épidémiologiques ont en effet montré que des perturbations des processus de développement et de maturation du SNC pendant des périodes de plus grande vulnérabilité que constituent la vie intra-utérine et les premières années de vie peuvent conduire à l'émergence de retards ou déficits fonctionnels au cours de l'enfance, de l'adolescence ou à l'âge adulte (Grandjean et Landrigan, 2006). C'est le paradigme de « l'origine développementale de la santé et de la maladie » (*Developmental Origins of Health and Disease* – DOHaD) (Heindel et al., 2015)

Au cours des dernières années, différent travaux scientifiques ont montré que l'exposition périnatale à de faibles niveaux de substances chimiques disséminées dans l'environnement peut être associée à des atteintes, parfois subtiles, du développement cognitif, du développement sensoriel et du comportement des enfants (Grandjean et Landrigan, 2006; Heindel et al., 2015; Miodovnik, 2011; Rice et Barone, 2000). Ces atteintes varient selon les propriétés de la substance chimique concernée mais également en fonction du moment et de la durée de l'exposition. Elles peuvent survenir à des niveaux d'exposition qui sont sans conséquence sur un cerveau adulte mais suffisent à venir perturber les processus clefs de développement cérébral qui ont lieux sur des fenêtres de temps précises. Une grande latence peut s'observer entre l'exposition périnatale à ces molécules et l'apparition des déficits fonctionnels. Ces déficits constituent un handicap pour l'individu mais également pour la société dans son ensemble (Rice, 1998).

1.1.3. Troubles du neurodéveloppement

Le terme déficit ou trouble du neurodéveloppement est employé pour désigner un ensemble d'altérations neurodéveloppementales tels que les retards de développement cognitif ou moteur, les troubles du langage et de l'apprentissage, les troubles de l'audition et de la vision, les troubles du spectre autistique ou encore le trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité (TDAH) (Grandjean et Landrigan, 2006).

Un rapport mené entre 1997 et 2008 par le *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) suggère qu'environ 14% des enfants de 3 à 18 ans aux États-Unis présentent de un ou plusieurs troubles du neurodéveloppement (Boyle et al., 2011). Les données issues de ce rapport sont en accord avec les chiffres obtenus lors d'études précédentes (Bhasin, Brocksen, Avchen et Van Naarden Braun, 2006; CDC, 2010; Kogan et al., 2009). Les auteurs notent une augmentation linéaire progressive de ces troubles sur cette période, de 12.84% en 1997–1999 à 15.04% en 2006 –2008. Ils rapportent également une augmentation de 17% des troubles du neurodéveloppement sur une période de 12 ans avec une augmentation plus importante de l'incidence du TDAH (+33%) et des troubles du spectre autistique (+289.5%).

Bien que de nombreux facteurs, dont les facteurs génétiques, l'amélioration des techniques de dépistage, une meilleure définition des critères de diagnostic, et une meilleure survie des enfants nés prématurément ou avec des anomalies génétiques puissent rendre compte de cette augmentation, la contribution de l'exposition à des substances chimiques ayant le potentiel de perturber le développement cérébral ne peut être écartée (Boyle et al., 2011). Selon l'Académie Nationale des Sciences des États-Unis, 3 % des troubles du neurodéveloppement pourraient directement résulter de l'exposition à des substances toxiques présentes dans l'environnement tandis que 25% de ces troubles pourraient être la conséquence d'une interaction entre de telles

substances et des susceptibilités génétiques individuelles (National Academy of Sciences, Committee on Developmental Toxicology, 2000).

Ces chiffres pourraient largement sous-estimer le rôle joué par les subtances chimiques car très peu d'études ont évalué la neurotoxicité développementale des composés industriels présents dans l'environnement et auxquels le fœtus et le jeune enfant sont régulièrement exposés (Grandjean et Landrigan, 2006). Il est important de souligner que ces données qui attribuent une part des troubles du neurodéveloppement à l'exposition à des subtances chimiques ne concernent que les troubles cliniques, diagnostiqués et répertoriés. Ces chiffres ne prennent pas en considération l'ensemble des effets neurotoxiques non diagnostiqués dits « sous-cliniques » tels que des diminutions de quotient intellectuel, des baisses de performances attentionnelles ou des modifications comportementales mineures. Un individu peut en effet voir ses performances cognitives ou comportementales affectées par l'exposition périnatale à une substance chimique sans que ses performances ne soient pour autant considérées comme pathologiques ou hors normes. Ces altérations témoignent pourtant d'une atteinte neurotoxique sous-jacente (perte neuronale, diminution de la densité synaptique, altération des niveaux de neurotransmetteurs, etc.) dont les manifestations pourraient être momentanément masquées par des processus compensatoires (Rice, 1998). Avec l'âge, sous l'influence d'autres facteurs de risque (stress, maladies etc) ou d'autres expositions à des molécules ayant un potentiel neurotoxique, ces manifestations pourraient devenir cliniquement significatives et aboutir à des déficits cognitifs fonctionnels et/ou troubles comportementaux.

Les effets sous-cliniques, bien que peu décelables chez un individu sans instrument de mesure spécifique, ont un impact important lorsqu'on les considère à une échelle populationnelle si un grand nombre d'individus est exposé (Rice, 1998). Par exemple, une diminution de 5 points de quotient intellectuel (QI) peut être sans conséquence

pour un individu, mais elle résulterait en un nombre deux fois plus important d'individus avec un retard mental (QI inférieur à 70) dans la population (figure 1.4). Cela résulterait également en un nombre 2.5 fois moins important de personnes avec une intelligence considérée comme largement supérieure à la moyenne soit surdouées (QI>130) (Rice, 1998).

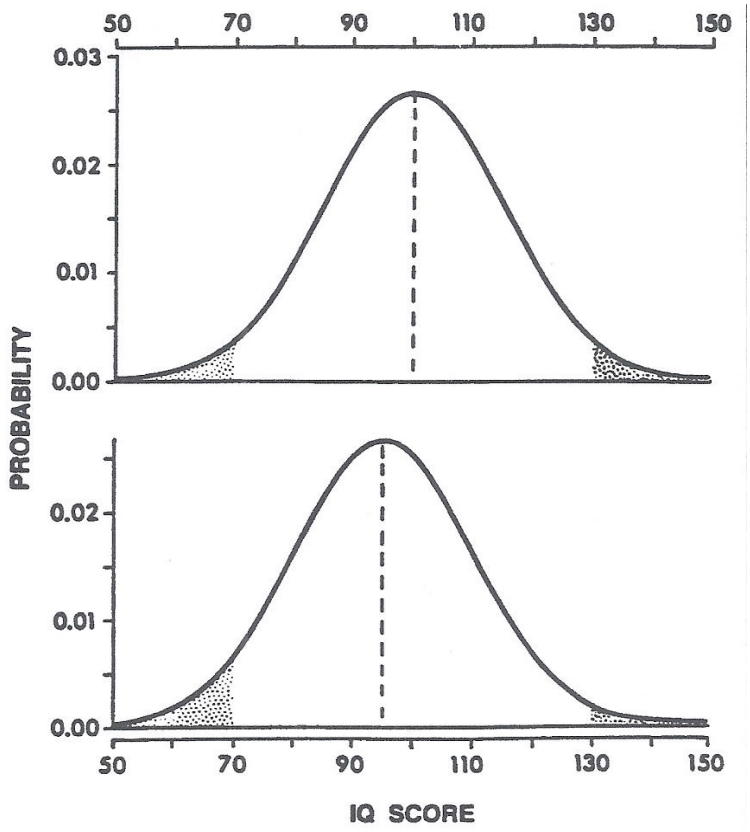


Figure 1.4 Effet d'une baisse de QI de 5 points sur la population (Weiss, 1997)

Qu'elles soient cliniques ou sous-cliniques, ces altérations du neurodéveloppement ont des conséquences ultérieures sur les performances sociales, scolaires et

professionnelles, et de façon plus générale sur la capacité qu'ont les individus à s'adapter et interagir avec leur environnement (Grandjean et Landrigan, 2014). Elles constituent un handicap et diminuent la qualité de vie. Ces déficits ont ainsi des répercussions sur la société dans son ensemble car ils nécessitent des aménagements sociaux, médicaux et éducatifs, influencent la productivité et engendrent ainsi des coûts importants (Weiss, 1997).

1.1.4. Substances chimiques et troubles du neurodéveloppement

Un grand nombre des substances chimiques produites par l'activité humaine sont présentes dans l'environnement et suspectées de posséder des propriétés de neurotoxicité développementale. Seul un faible pourcentage de ces molécules a cependant été évalué pour leurs effets sur le neurodéveloppement (Grandjean et Landrigan, 2006). Parmi ces molécules on compte des métaux lourds tels que le plomb ou le mercure, des solvants, des retardateurs de flammes présents dans les textiles, l'ameublement ou les produits électroniques, des phtalates issus de l'industrie du plastique, des composés perfluorés et des insecticides.

1.2. Insecticides

1.2.1. Définition

Les insecticides sont des pesticides utilisés en agriculture, dans les espaces publics, les forêts ainsi que destinés à un usage vétérinaire et domestique. Ces molécules dont les propriétés neurotoxiques ont été découvertes durant la seconde guerre mondiale lors de recherches menées sur les gaz de combat ont commencé à être employées massivement dans le domaine agricole dès les années 1940. Les insecticides sont

volontairement conçus pour être des poisons pour les insectes en agissant sur leur SNC, afin d'éliminer les espèces considérées nuisibles ou indésirables. Les insecticides commercialisés sont composés d'une ou plusieurs matières actives auxquelles sont ajoutés d'autres produits (diluants, surfactants, synergisants) dans le but d'en améliorer l'efficacité ou de faciliter leur usage. Il existe différentes classes chimiques d'insecticides, parmi lesquels les insecticides organochlorés (OC), les insecticides organophosphorés (OP), les carbamates, les pyréthrinoïdes, les néonicotinoïdes.

1.2.2. Insecticides organochlorés

Les OC sont des insecticides issus de l'industrie du chlore tels que le Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), le Chlordane, le Lindane, le Chlordécone. Ces insecticides ont constitué la classe d'insecticide la plus utilisée des années 1940 aux années 1970. Leur utilisation a ensuite été fortement restreinte au niveau mondial par la convention de Stockholm ratifiée en 2001, en raison de la grande persistance de ces insecticides dans l'environnement, mais aussi de leurs propriétés de perturbateur endocrinien ainsi que de leurs effets néfastes observés chez l'humain et l'animal (Carson, 2002). Certains insecticides organochlorés continuent cependant d'être utilisés dans le monde, c'est le cas notamment du DDT encore employé dans certains pays comme moyen de lutte contre les moustiques vecteurs de la malaria.

Ces pesticides sont des polluants organiques persistants (POP). Ils ont une grande stabilité et persistance dans l'environnement car ils résistent aux dégradations photolytiques, biologiques et chimiques. Les OC sont lipophiles, ils se concentrent donc dans les tissus adipeux, ce qui entraine leur bioaccumulation chez les êtres vivants. La concentration de ces composés augmente ainsi tout au long de la chaine alimentaire (figure 1.5).

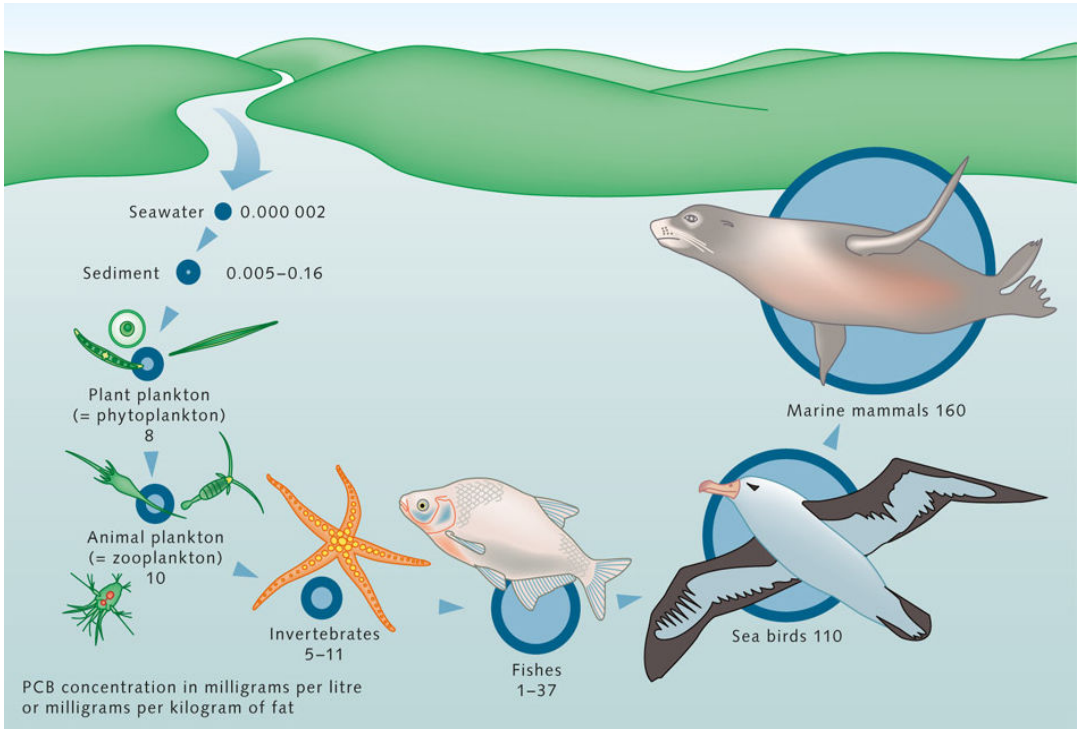


Figure 1.5 Bioaccumulation des POP dans la chaine alimentaire (Bohlmann, 1991)

Les OC sont semi-volatiles, les grands courants atmosphériques leur permettent de se déplacer sur de très longues distances, des zones chaudes à des zones plus froides où ils se déposent (figure 1.6) (Veillerette, 2003). Ce phénomène ainsi que leurs propriétés de POP expliquent qu'on puisse retrouver des OC n'importe où sur la planète, même dans des zones géographiques situées loin de leur site d'émission, dans l'Arctique ou l'Antarctique par exemple, et cela malgré l'arrêt de la production et de l'utilisation de la plupart de ces molécules depuis plusieurs décennies (Baek, Choi et Chang, 2011).

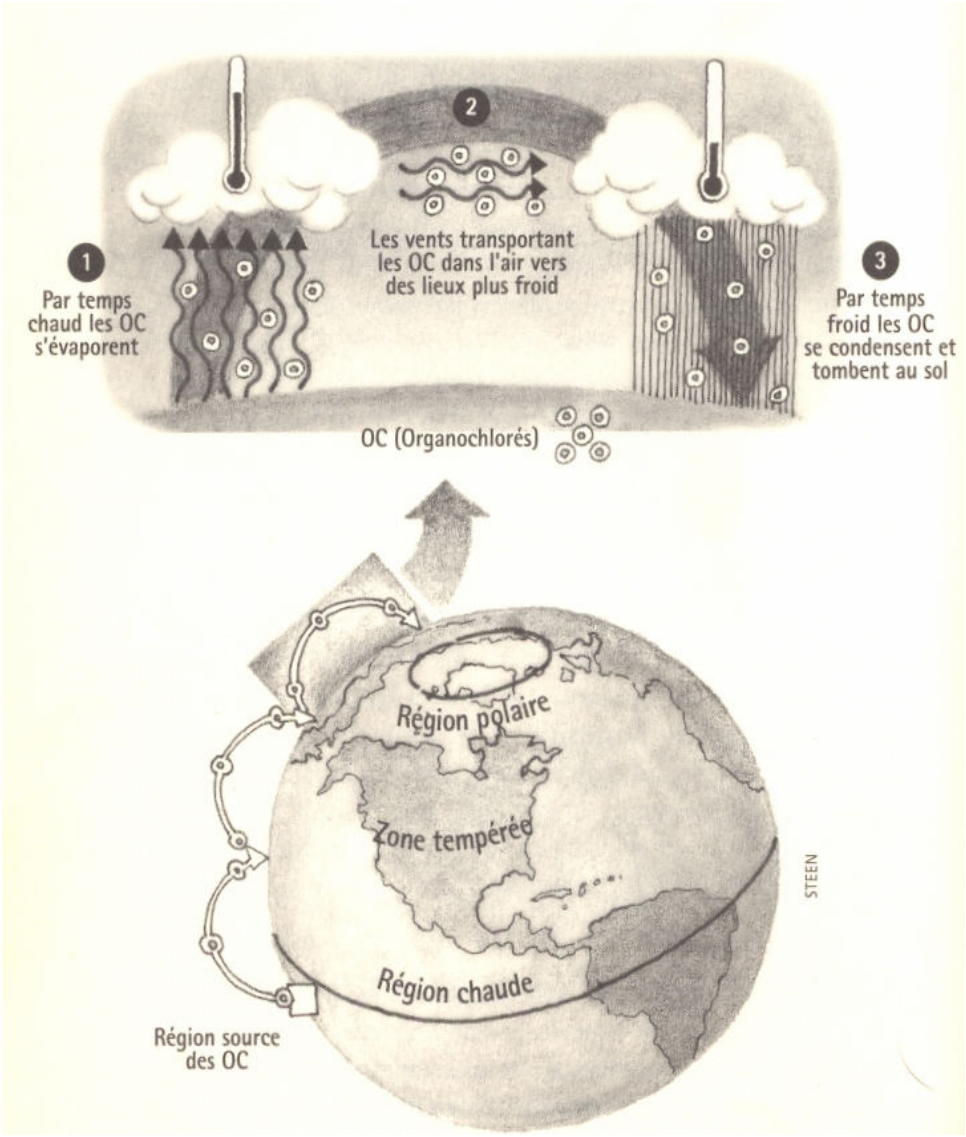


Figure 1.6 Transport des organochlorés vers les pôles (Veillerette, 2003)

1.2.3. Insecticides organophosphorés

Il existe un grand nombre d'OP parmi lesquels le Chlorpyrifos, le Diazinon, le Parathion, le Malathion. L'usage de ces molécules a largement remplacé celui des OC à partir des années 1970. Les OP possèdent en effet l'avantage d'être plus toxiques, donc plus efficaces, tout en étant non persistants dans l'environnement. Leur demi-vie est de quelques semaines à quelques mois dans l'air, l'eau et le sol. Leur demi-vie plasmatique est de quelques heures à quelques jours, selon les espèces et selon les OP, car de façon générale les OP sont rapidement métabolisés dans le foie et excrétés dans les urines (Garfitt, Jones, Mason et Cocker, 2002; Munoz-Quezada et al., 2013). Cette demi-vie est donc largement inférieure à celles des organochlorés qui excède parfois plusieurs dizaines d'années. La principale source de rejet de ces insecticides est leur emploi en plein champ mais on les retrouve aussi dans des produits destinés à usage domestique ou des colliers antiparasitaires pour animaux domestiques.

1.2.4. Mode d'action

Les insecticides ont tous pour objectif d'empoisonner le système nerveux des organismes-cibles. Leur mode d'action diffère cependant selon la classe d'insecticide considérée.

1.2.4.1. Mode d'action des OC

Les OC agissent sur la conductance de la membrane cellulaire. Ils prolongent l'ouverture des canaux membranaires sodium voltage dépendant ce qui augmente la durée de la dépolarisation du neurone et peut mener à un état d'hyperexcitabilité

central (Narahashi, 2000). Ils inhibent également les récepteurs GABA, bloquant l'influx de Cl- dans la cellule, ce qui peut aboutir là aussi à un état hyperexcitabilité central (Vale et al., 2003). Les OC peuvent aussi interférer avec le transport du K+ et Ca+ à travers la membrane neuronale par une inhibition de ATPase (Coats, 1990).

1.2.4.2. Mode d'action des OP

Les organophosphorés, pour leur part, inhibent l'acétylcholinestérase, une enzyme qui dégrade l'acétylcholine et permet aux récepteurs cholinergiques nicotiniques et muscariniques de revenir à leur état de repos après activation (Costa, 2006). Cette inhibition mène à une accumulation d'acétylcholine dans les jonctions synaptiques du SNC et du système nerveux périphérique (SNP) pouvant aboutir là aussi à un état d'hyperexcitabilité du système nerveux.

1.2.5. Neurotoxicité

Les symptômes de neurotoxicité aigüe provoqués par ces molécules ont pu être observés dans le contexte d'empoisonnements accidentels ou volontaires. Cette neurotoxicité peut se manifester graduellement par de la fatigue, des troubles de la vision, des céphalées, une faiblesse musculaire ou des tremblements, des nausées, des vomissements, une hypersalivation et hyperlacrymation, des convulsions, le coma puis la mort (Costa, 2006; Simpson et Schuman, 2002).

Des études menées in vitro, chez l'animal et chez l'humain ont montré que les OC et OP possèdent des propriétés de neurotoxicité développementale et peuvent interférer avec les processus clefs du développement cérébral. Ces molécules peuvent en effet altérer la prolifération et différenciation des neurones, la formation synaptique, le

système de neurotransmission ainsi que les facteurs de croissance dans différentes parties du cerveau (Aldridge, Meyer, Seidler et Slotkin, 2005; Qiao, Seidler et Slotkin, 2005; Qiao, Seidler, Tate, Cousins et Slotkin, 2003; Shinomiya et Shinomiya, 2003; Slotkin et Seidler, 2007; Slotkin, Seidler et Fumagalli, 2007; Srivastava, Singh, Shukla, Khanna et Parmar, 2015). En tant que perturbateur endocrinien, les OC peuvent également interférer avec le taux et le fonctionnement des hormones thyroïdiennes et sexuelles qui jouent un rôle crucial dans les étapes du développement cérébral in utero (Julvez, Debes, Weihe, Choi et Grandjean, 2011; Kim et al., 2015; Porterfield, 1994). Les OP agissent sur les taux d'acétylcholine, neurotransmetteur qui joue un rôle clef lors du neurodéveloppement (Slotkin, 2004).

1.2.6. Exposition des populations

Les femmes enceintes et les enfants sont régulièrement exposés aux OC et OP. Ces molécules sont en effet couramment détectées dans les prélèvements d'urine ou de sang de ces populations (Engel et al., 2007; Eskenazi et al., 2007; Young et al., 2005). Comme mentionné précédemment les OC résistent aux dégradations naturelles de l'environnement, se déplacent sur de très longues distances, et s'accumulent dans les tissus des êtres vivants. Les OC sont donc retrouvés dans le sang de toutes les populations où ils sont recherchés malgré le fait que la plupart d'entre eux ne soient plus ni produits ni utilisés depuis de nombreuses années. Bien que la demi vie plasmatique des OP soit très courte, la contamination de la population par les OP témoigne d'un contact régulier et possiblement quotidien avec ces molécules. Des études de biosurveillance de la population générale ont ainsi montré que l'on peut détecter des métabolites des OP dans les urines de 90 % à 100% de la population générale en Europe, aux Etats-Unis ou au Canada (CDC, 2009; HealthCanada, 2010).

Plusieurs sources possibles d'OP peuvent expliquer l'exposition chronique des populations. Les insecticides sont tout d'abord présents sous forme de résidus dans les aliments de consommation courante (Bakirci, Yaman Acay, Bakirci et Otles, 2014; Nougadere et al., 2012). Les données actuelles montrent qu'une voie importante d'exposition aux OP est la consommation de fruits et légumes contaminés issus de l'agriculture conventionnelle tandis que l'exposition aux OC est davantage reliée à la consommation des viandes, poissons et produits laitiers (Cao et al., 2011; Llop et al., 2010; Lu, Barr, Pearson et Waller, 2008; Nougadere et al., 2012; Sokoloff et al., 2016). Les OP et OC sont également présents dans l'eau, en suspension dans l'air, ainsi que dans les poussières (Abb, Breuer, Zeitz et Lorenz, 2010; Bouvier, Blanchard, Momas et Seta, 2006a; Diaz, Ortiz, Schettino, Vega et Gutierrez, 2009). Les OP sont présents dans certains produits destinés à un usage domestique ou vétérinaire.

Certains facteurs sont associés à une plus forte exposition aux OP tel que le fait de résider à proximité de zones traitées (zones agricoles, vignes, forêts). L'utilisation à domicile de produits insecticides contenant des OP augmente la quantité de résidus présente dans l'air intérieur, sur les sols, jouets, tapis, meubles etc. et amplifie l'exposition des résidents à ces molécules (Whyatt et al., 2003; Whyatt et al., 2002). Les produits insecticides utilisés par les particuliers dans leur jardin peuvent ensuite être transportés à l'intérieur de la maison par les animaux domestiques ou les personnes (Rauh et Margolis, 2016). Les personnes travaillant en contact avec les pesticides (horticulteurs, agriculteurs, vignerons, vétérinaires, jardiniers) peuvent aussi transporter sur leurs vêtements ou sous leurs chaussures de plus grandes quantités de pesticides qu'elles rapportent à leur domicile (Curl et al., 2002; Lambert et al., 2005; Rauh et Margolis, 2016) augmentant ainsi leur taux d'exposition ainsi que celui de leur famille.

Le foetus est exposé à ces molécules durant son développement car les OC et OP peuvent traverser la barrière placentaire. Un grand nombre d'OC et d'OP ont ainsi pu être mesurés au niveau du cordon ombilical, du placenta et du liquide amniotique (Bradman et al., 2003; Sala et al., 2001; Vizcaino, Grimalt, Fernandez-Somoano et Tardon, 2014; Whyatt et al., 2005). Les OC sont présents dans le lait maternel, l'allaitement est donc une source non négligeable d'exposition du nourrisson à ces molécules (Jaraczewska et al., 2006; Muckle, Ayotte, Dewailly, Jacobson et Jacobson, 2001). En comparaison avec les adultes, les enfants sont plus exposés aux insecticides en raison de leur plus grande propension à porter leur main à leur bouche, leurs plus nombreux contacts avec les poussières de la maison, leur plus grande consommation d'aliments et d'eau par unité de poids (Landrigan et Miodovnik, 2011). Contrairement aux adultes le système de détoxification du fœtus et des jeunes enfants n'est pas mature ce qui peut augmenter leur exposition aux polluants chimiques, et leur barrière hématoencéphalique n'est pas encore totalement formée, ces polluant ont donc plus de chances d'entrer en contact avec leur SNC (Landrigan et Miodovnik, 2011).

1.3. OC et neurodéveloppement

De nombreuses études scientifiques rapportent des associations négatives entre l'exposition développementale aux OC, le développement cognitif et le comportement des enfants.

Au cours des dernières années l'exposition prénatale aux OC Mirex, Chlordécone, Hexachlorobenzène, a en effet été mise en relation avec la présence de déficits de mémoire de travail (Puertas et al., 2010), avec des altérations de la motricité fine et des fonctions cognitives des jeunes enfants (Boucher et al., 2013; Dallaire et al., 2012), ainsi qu'avec la présence de symptômes du TDAH (Ribas-Fito et al., 2007).

Un grand nombre d'études se sont particulièrement intéressées aux effets du DDT et de son métabolite principal, le Dichlorodiphényltrichloroethylène (DDE), sur le développement neuropsychologique et le comportement des enfants car ces molécules sont les OC qui sont retrouvés aux plus fortes fréquences et concentrations dans les populations et que leur utilisation est encore d'actualité dans certains pays. Une étude de cohorte prospective a par exemple été mise en place en Espagne entre 1997 et 1999 afin de suivre le développement cognitif d'une centaine d'enfants en relation avec l'exposition prénatale au DDT et au DDE. Les résultats mettent en évidence des associations statistiquement significatives entre les concentrations de DDE mesurées dans le sang du cordon ombilical et le développement psychomoteur et mental des enfants à 13 mois (Ribas-Fito et al., 2003). Un suivi de ces mêmes enfants réalisé 3 ans plus tard avec l'ajout d'une autre cohorte espagnole a permis de rapporter des associations statistiquement significatives entre les niveaux de DDT mesurés dans le sang du cordon et les scores de mémoire, ainsi que les scores verbaux, quantitatifs et perceptifs de l'échelle *McCarthy Scales of Children's Abilities* (MSCA) (Ribas-Fito et al., 2006).

La cohorte CHAMACOS (*Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas*) a été mise en place à l'Université de Californie à Berkeley entre 1999 et 2000. Elle inclut 601 femmes enceintes de la communauté agricole de Salinas (principalement hispaniques) recrutées à moins de 20 semaines de grossesse. Les niveaux de DDT et DDE mesurés dans cette cohorte sont supérieurs à ceux mesurés dans la cohorte espagnole précédente ainsi que dans la population générale (CDC, 2009). Les études réalisées auprès de cette cohorte ont permis d'observer certaines associations négatives entre l'exposition prénatale au DDT ou au DDE et le neurodéveloppement des enfants. Les niveaux de DDT mesurés chez la maman durant la grossesse se sont en effet révélés être associés à un moindre développement psychomoteur et mental des enfants mesuré à l'aide de l'échelle *Bayley Scales of*

Infant Developpement II (BSID-II) à 6, 12 et 24 mois (Eskenazi et al., 2006). Les niveaux de DDE ont quant à eux été associés à une diminution des scores de développement psychomoteur enregistrés à 6 mois, sans association à 12 ou 24 mois. Un suivi de ces mêmes enfants réalisé quelques années plus tard a permis de révéler des associations négatives entre l'exposition prénatale au DDT et une diminution de la vitesse de traitement de l'information à 7 ans mesurée à l'aide du *Weschler Scales of Intelligence for Children* (WISC) (Gaspar et al., 2015). Les auteurs ont également observé une diminution statistiquement significative de la vitesse de traitement de l'information et du QI des filles en lien avec l'exposition prénatale au DDE, sans que de tels résultats n'aient pu être observés chez les garçons (Gaspar et al., 2015).

En Caroline du nord, une cohorte constituée d'environ 900 femmes enceintes recrutées en 1980 et exposées à des niveaux de DDT et DDE encore supérieurs à ceux de la cohorte CHAMACOS a permis d'observer des associations entre l'exposition prénatale au DDE mesurée dans le lait maternel et une altération des réflexes des nouveau-nés (Rogan et al., 1986). Aucune autre association n'a cependant été observée entre le DDE et le développement moteur ou cognitif des enfants évalué à 6, 12, 18 ou 24 mois avec le BSID-II (Gladen et al., 1988; Rogan et Gladen, 1991), ni à 3, 4 ou 5 ans tel qu'évalué sur l'échelle MSCA (Gladen et Rogan, 1991).

L'impact de l'exposition prénatale au DDE sur le développement cognitif des enfants a été étudié dans une cohorte américaine mise en place dans l'Etat du Massachussetts entre 1993 et 1998 et incluant 788 paires mère-enfant. De plus faibles performances attentionnelles ont été observées chez les nouveau-nés âgés de 2 mois en lien avec le DDE mesuré dans le cordon ombilical (Sagiv et al., 2008). Entre 7 et 11 ans l'exposition prénatale au DDE a été associée avec une augmentation du nombre de symptômes évocateurs du TDAH rapporté par les enseignants à l'aide de l'échelle de Conner (Sagiv et al., 2010).

Une cohorte mères-enfants a été mise en place au Mexique entre 2001 et 2005. Le DDT a été utilisé jusqu'en 1999 dans ce pays, comme moyen de lutte contre les moustiques vecteurs de la malaria. Le DDE a été mesuré dans le sang de la maman durant la grossesse et le développement moteur et cognitif des enfants issus de ces grossesses a été évalué de 6 mois à 5 ans à l'aide de différents outils tels que le BSID-II ou l'échelle MSCA. En raison de l'interdiction plus récente du DDT au Mexique cette cohorte était exposée aux mêmes concentrations de DDE que la cohorte CHAMACOS donc supérieures à celles de la population générale. Des associations négatives statistiquement significatives ont été observées entre l'exposition prénatale au DDE et le développement psychomoteur des enfants jusqu'à l'âge de un an (Torres-Sanchez et al., 2007). Bien qu'aucune association n'ait été observée entre un an et 30 mois (Torres-Sanchez et al., 2009), de moindres performances cognitives ont été mesurées en lien avec l'exposition prénatale au DDE à 3.5, 4, 4.5 et 5 ans (Osorio-Valencia et al., 2015; Torres-Sanchez et al., 2013).

1.4. OP et neurodéveloppement

Bien que la neurotoxicité aigüe des OP soit bien connue, les effets de l'impact de l'exposition chronique à des concentrations communes de ces molécules sur le neurodéveloppement, soit à des concentrations beaucoup plus faibles et qui concernent un plus grand nombre d'individus, voir des populations entières, font l'objet de polémiques et d'incertitudes.

Des études récentes font apparaitre que l'exposition prénatale aux OP peut avoir un impact sur le développement neuropsychologique des enfants et sur leurs comportements (Gonzalez-Alzaga et al., 2014; Munoz-Quezada et al., 2013). Aux États-Unis quatre groupes de chercheurs ont mis en place des cohortes mères-enfants

destinées à évaluer les effets à long terme de l'exposition in utero aux insecticides organophosphorés sur le neurodéveloppement de l'enfant, utilisant des biomarqueurs d'exposition et des tests standardisés neuropsychologiques.

La cohorte multiethnique de l'hôpital Mount Sinaï à New York (*Children's Environmental Health Study*) inclut 404 femmes ayant accouché entre 1998 et 2002. L'exposition aux OP a été mesurée par le dosage urinaire de DAP (métabolites dialkylphosphates, communs à de nombreux insecticides organophosphorés) et de l'acide dicarboxylique de Malathion (métabolite du Malathion, insecticide organophosphoré). L'activité de la paraoxonase 1 (PON1), enzyme clé dans le métabolisme des OP, a été mesurée dans le sang maternel collecté pendant la grossesse et dans le sang de cordon. Les polymorphismes de PON1 ont été recherchés. Un examen neurologique a été réalisé chez les nouveau-nés à l'aide du test de Brazelton. Les enfants ont ensuite été évalués au moyen de tests psychométriques à l'âge de 12 mois, 24 mois et 6-9 ans.
Cette étude a mis en évidence une association statistiquement significative entre les concentrations de DAP mesurées dans les urines de la maman et la présence de réflexes anormaux chez les nouveau-nés (Engel et al., 2007). Un déficit de développement cognitif associé aux concentrations urinaires de DAP a également été rapporté chez les hispaniques et les personnes noires à 12 mois avec une association plus forte chez les mères porteuses des génotypes QR/RR du polymorphisme PON1_Q192R. Un déficit du raisonnement perceptif à l'âge de 6-9 ans a été observé en lien avec une augmentation du niveau de DAP chez les enfants de mères avec le génotype QQ (Engel et al., 2011). Enfin de moindres performances sociales ont été rapportées chez les enfants noirs seulement, entre 7 et 9 ans, en relation avec l'exposition prénatale aux OP (Furlong, Engel, Barr et Wolff, 2014).

Une autre cohorte a été mise en place à New York entre 1998 et 2002 à l'Université Columbia. Des femmes non fumeuses se reconnaissant comme afro-américaines ou

dominicaines ont été incluses avant la 20ème semaine de grossesse. Le Chlorpyrifos, un OP très fréquemment utilisé aux Etats-Unis par les particuliers jusqu'en 2001, a été mesuré dans le sang de cordon. Le développement moteur et cognitif des enfants a été évalué à 12, 24 et 36 mois (n=254) par le BSID-II, à 36 mois par le *Child Behavior Checklist* (CBCL) qui fournit des scores de problèmes d'attention, TDAH, et troubles envahissant du développement (TED) compatibles avec les critères diagnostiques du DSM IV, puis à l'âge de 7 ans (n=265) à l'aide du WISC.
Les résultats obtenus à 36 mois ont mis en évidence des retards de développement psychomoteur et cognitif ainsi qu'une augmentation de la fréquence des problèmes d'attention, des symptômes de type TDAH et des symptômes évocateurs du TED chez les enfants exposés aux plus fortes concentrations prénatales de Chlorpyrifos (Rauh et al., 2006). A 7 ans une diminution de 1,4% du QI global des enfants a été mise en évidence ainsi qu'une diminution de 2,8% de la mémoire de travail pour chaque accroissement de 4,61 pg/g de Chlorpyrifos dans le sang du cordon (Rauh et al., 2011). Un examen de la motricité fine des enfants réalisé entre 9 et 13 ans, a révélé une plus forte fréquence de tremblements de la main en lien avec l'exposition prénatale au Chlorpyrifos (Rauh et al., 2015). Enfin des modifications anatomiques cérébrales visibles à l'IRM ont été rapportées entre 6 et 11 ans chez les enfants exposés aux plus fortes concentrations de ce composé (Rauh et al., 2012).

La cohorte CHAMACOS qui a été présentée précédemment s'est également intéressée aux effets de neurotoxicité développementale des OP. Les DAP ainsi que les métabolites spécifiques du Malathion et du Chlorpyrifos ont été mesurés dans les urines de la mère à 14 et 26 semaines de grossesse ainsi que dans celles des enfants à différents âges au cours du suivi. Un examen neurologique a été réalisé à 2 mois à l'aide du test de Brazelton (n=381). Les enfants ont ensuite été suivis à 6 (n=396), 12 (n=395) et 24 (n=372) mois à l'aide du BSID-II et du CBCL. A 3,5 ans, 331 enfants ont été évalué à l'aide du test d'attention visuelle de la NEPSY-II et de la CBCL. A l'âge de 5 ans, 323 enfants issus de cette cohorte ont été évalué à l'aide de la CBCL,

du Conners' Kiddie Continuous Performance Test (K-CPT) et d'une évaluation par un psychomotricien pour un diagnostic d'hyperactivité. Enfin, à 7 ans, 329 enfants ont été examinés à l'aide de l'échelle de Weschler (WISC IV).

Les résultats de l'examen neurologique ont montré une augmentation dose-dépendante de la fréquence de réflexes anomaux chez les nouveau-nés en lien avec le niveau prénatal de DAP dans les urines des mamans (Young et al., 2005). A l'âge de 24 mois, les auteurs ont observé un déficit de développement cognitif en lien avec l'augmentation des concentrations prénatales de DAP ainsi qu'une association entre les concentrations pré- et postnatales de DAP urinaires et le score de symptômes associés au TED rapporté par les parents (Eskenazi et al., 2007). Toujours à 24 mois, aucune association n'a été observée avec le développement psychomoteur ou les problèmes d'attention tandis que les concentrations de DAP urinaires de l'enfant (postnatales) se sont révélées associées à un meilleur développement cognitif (Eskenazi et al., 2007). A 3,5 ans, aucune association entre l'exposition prénatale et les problèmes d'attention ou d'hyperactivité n'a été mise en évidence, alors que des associations apparaissent à l'âge de 5 ans, et sont plus marquées chez les garçons (Marks et al., 2010). La seule association observée avec les niveaux d'exposition postnatale montrait une diminution de l'attention à 5 ans (Marks et al., 2010). A 7 ans, les résultats mettent en évidence un déficit de développement cognitif associé aux concentrations urinaires de DAP pendant la grossesse, en particulier, pour la mémoire de travail, la vitesse d'exécution, le raisonnement perceptif et la compréhension verbale (Bouchard et al., 2011). Une différence de 7 points de QI a été observée entre les enfants avec le plus faible et ceux avec le plus haut quintile de DAP dans les urines maternelles. Aucun déficit du développement cognitif à 7 ans n'a été observé en lien avec les expositions post-natales aux insecticides organophosphorés (Bouchard et al., 2011).

Ces trois études de cohorte ont toutes inclus des sujets exposés à des niveaux d'OP supérieurs à ceux retrouvés dans la population générale du fait d'un usage domestique important de ces molécules ou de part leur activité professionnelle agricole.

La cohorte Health Outcomes and Measures of the Environment Study (HOME Study), pour sa part, concerne des sujets issus de la population générale et dont le niveau d'exposition aux OP est comparable à la moyenne mesurée dans la population américaine. Cette cohorte a été mise en place en Ohio entre 2003 et 2006. Elle inclut 327 paires mère-enfant. Les DAP ont été mesurés dans les urines de la maman à 16 et 26 semaines de grossesse afin d'obtenir une mesure de l'expositoin prénatale aux OP. Le développement des enfants a été évalué à 5 semaines à l'aide du *NICU Network Neurobehavioral Scale* (NNNS), à 1, 2 et 3 ans à l'aide de la BSID-II, à 4 ans avec le *Clinical Evaluation of Language Fundamentals-Preschool, Second Edition*, ainsi qu'à 5 ans avec le *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence* (WPPSI). Les résultats obtenus par cette equipe ne reproduisent pas ceux des autres cohortes américaines citées précédemment. En effet, de façon surprenante, les concentrations urinaires d'OP mesurées durant la grossesse sont associées à une reduction de la léthargie et de l'hypotonie des nouveaux-nés à 5 semaines, ainsi qu'à de meilleures performances d'attention (Yolton, 2013). Aucune autre association statistiquement significative n'est observée entre les OP et les autres mesures de neurodéveloppement disponibles chez ces enfants entre 1 et 5 ans (Donauer, 2016). Les auteurs précisent que leurs résultats doivent être interprétés avec beaucoup de précautions. Ils soulignent que les femmes avec les plus hautes concentrations urinaires d'OP sont aussi les femmes avec le plus haut niveau socio-économique et qui rapportent une plus grande consommation de fruits et légumes durant leur grossesse. Les auteurs font l'hypothèse que les bénéfices tirés des stimulations familiales ou des nutriments consommés pendant la grossesse pourraient masquer ou compenser les effets neurodéveloppementaux préjudiciables des OP. L'absence d'associations observées entre les OP et les fonctions cognitives des enfants pourraient également être

attributable à un niveau d'exposition plus faible que ceux mesurés dans les 3 études de cohorte précédemment citées

Les études scientifiques portant sur la neurotoxicité développementale des OP se sont principalement intéressées aux fonctions cognitives et motrices des enfants en lien avec l'exposition à ces molécules. Bien que peu nombreuses certaines études suggèrent cependant que les OP pourraient également influencer le développement sensoriel des enfants. Il a en effet été montré en Equateur que les enfants nés de mamans ayant travaillé en contact avec des OP durant leur grossesse présentent de moindres performances visuo-spatiales (Grandjean, Harari, Barr et Debes, 2006; Harari et al., 2010) et ont plus de chances d'avoir une mauvaise acuité visuelle en comparaison avec des enfants du même âge non exposés (Handal, Harlow, Breilh et Lozoff, 2008).

1.5. Objectifs

L'objectif principal de la thèse était d'étudier les associations entre l'exposition pendant la grossesse à différentes classes d'insecticides (organochlorés et organophosphorés) et le développement des fonctions cognitives et visuelles d'enfants issus de deux cohortes.

1.5.1. Problématique 1

Bien que de plus en plus d'études rapportent des effets délétères de l'exposition développementale aux insecticides organochlorés, et plus particulièrement du DDT et du DDE, sur la cognition et le comportement des enfants, très peu de chercheurs se sont penchés sur les conséquences de l'exposition développementale à de telles molécules sur l'intégrité des fonctions sensorielles. Il est pourtant important de noter

que le traitement sensoriel des informations présentes dans notre environnement précède leur traitement cognitif. Il est donc possible que les déficits cognitifs observés en lien avec l'exposition développementale aux OC soient, du moins en partie, reliés à des altérations sensorielles en amont, telles que des déficits auditifs et/ou visuels. De plus, bien que peu souvent explorée, l'étude de l'intégrité des fonctions sensorielles en lien avec les contaminants environnementaux peut permettre de révéler des effets de neurotoxicité subtils parfois non décelables avec les outils cliniques classiques d'évaluation neuropsychologique.

Le premier objectif du présent travail est donc d'explorer si l'exposition prénatale aux OC, DDT et DDE, est associée à une altération des fonctions visuelles des enfants mesurées à l'aide de la technique électrophysiologique des potentiels évoqués visuels (PEV). Pour se faire, nous étudierons une cohorte d'enfants Inuit âgés de 11 ans mise en place au Nunavik (Québec). En raison de leur alimentation traditionnelle qui concentre une importante quantité de contaminants environnementaux, les enfants issus de cette cohorte sont exposés à de fortes concentrations d'OC et constituent une population d'intérêt dans l'étude de la neurotoxicité développementale de ces molécules.

Au vue de la littérature scientifique qui rapporte des effets délétères des OC sur les fonctions cognitives, nous nous attendons à observer des altérations sensorielles visuelle subtiles qui pourraient refléter des atteintes neuronales anatomiques ou fonctionnelles sous-jacentes résultant de l'exposition développementale à ces molécules.

1.5.2. Problématique 2

Au cours des dernières années les indices de la neurotoxicité de l'exposition in utero à des concentrations communes d'OP se sont accumulés dans la littérature épidémiologique. Il est cependant important de souligner que presque toutes les études de cohorte longitudinales relatives à l'impact de l'exposition aux OP sur le neurodéveloppement ont été conduites aux États-Unis auprès de minorités ethniques ou de populations issus de milieux socioéconomiques défavorisés. Ces populations sont soumises à d'autres expositions environnementales et d'autres vulnérabilités pouvant interférer avec les associations observées et pouvant influencer le développement de l'enfant. Au vu de cette littérature, il parait donc essentiel d'élargir à des populations non défavorisées les connaissances sur les conséquences neurodéveloppementales de l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Le second objectif du présent projet doctoral est donc d'étudier si l'exposition prénatale aux OP est associée au développement cognitif mesuré chez des enfants d'âge scolaire issus de la population générale française. Pour ce faire, nous étudierons une cohorte mise en place en Bretagne et constituée d'enfants de 6 ans exposés à des concentrations d'insecticides organophosphorés classiquement mesurées dans la population générale, la cohorte PELAGIE. Des marqueurs urinaires d'exposition prénatale aux OP, communément utilisés dans les précédentes études et les études de biosurveillance de la population générale, seront utilisés et le développement neuropsychologique sera évalué au moyen de tests neuropsychologiques standardisés.

Bien que la population d'étude de la cohorte PELAGIE soit issue d'un milieu moins défavorisé que les populations étudiées dans la plupart des études conduites aux États-Unis, les résultats attendus de ce second objectif sont d'observer une diminution des performances cognitives des enfants de la cohorte PELAGIE en lien avec l'exposition prénatale à ces molécules du fait des propriétés neurotoxiques des OP et de l'exposition de ces enfants durant les phases critiques de leur développement.

1.5.3. Problématique 3

En raison du peu de données concernant l'impact de l'exposition chronique aux OP sur le développement des fonctions sensorielles des enfants et parce que, comme mentionné précédemment, l'évaluation des fonctions sensorielles peut permettre de mettre en évidence des atteintes cérébrales subtiles non décelables lors de l'évaluation des fonctions cognitives, les fonctions visuelles seront donc également investiguées dans le présent travail en lien avec l'exposition aux OP.

Le troisième objectif du présent projet consiste à évaluer si l'exposition prénatale à des niveaux communs d'OP est associée aux fonctions visuelles des enfants issus de la population générale en France. Les biomarqueurs d'exposition prénatale aux OP seront mis en relation avec les scores de sensibilité au contraste mesurés à 6 ans chez les enfants de la cohorte PELAGIE.

En raison des propriétés neurotoxiques de ces molécules et du fait des quelques études ayant montré des altérations des fonctions visuelles des enfants en lien avec l'exposition prénatale professionnelle aux OP, nous pouvons nous attendre à observer certaines associations avec les fonctions visuelles des enfants.

CHAPITRE II

ARTICLE 1 - PRENATAL AND 5-YEAR P,P'-DDE EXPOSURES ARE ASSOCIATED WITH ALTERED SENSORY PROCESSING IN SCHOOL-AGED CHILDREN IN NUNAVIK : A VISUAL EVOKED POTENTIAL STUDY

Prenatal and 5-year *p,p'*-DDE exposures are associated with altered sensory processing in school-aged children in Nunavik: A visual evoked potential study

Chloé Cartier[a,b], Gina Muckle[c,d], Sandra W. Jacobson[e], Joseph L. Jacobson[e], Éric Dewailly[d,f], Pierre Ayotte[d,f], Cécile Chevrier[b] and Dave Saint-Amour[a,g]

[a]Département de psychologie, Université du Québec à Montréal, 320 Sainte-Catherine Est Pavillon J.A. De Sève, local DS5775, Montréal, Québec, Canada. H2X 1L7

[b]INSERM U1085, Université Rennes I, 263 Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes, France

[c]École de psychologie, Université Laval, 2325, rue des Bibliothèques, Québec (Québec), Canada, G1V 0A6

[d]Axe santé des populations et pratiques optimales en santé, Centre de recherche du CHU de Québec, 2875 boul. Laurier, Québec (Québec), Canada, G1V 2M2.

[e]Department of Psychiatry and Behavioral Neurosciences, Wayne State University, 3901 Chrysler Drive, Suite 2-C, Detroit, Michigan, MI 48201, United States.

[f]Département de médecine sociale et préventive, Faculté de Médecine, 1050, avenue de la Médecine, Pavillon Ferdinand-Vandry, Université Laval, Québec (Québec), Canada, G1V 0A6

[g]Centre de recherche et département d'ophtalmologie, CHU Sainte-Justine, 3175 Chemin de la Côte Sainte-Catherine, Montréal, (Québec), Canada, H3T 1C5.\

Corresponding author: Dave Saint-Amour, Université du Québec à Montréal, 320 Sainte-Catherine Est, Pavillon J.A. De Sève, Montréal, Québec, Canada. H2X 1L7 Phone (514) 987-3000 # 7698, fax: (514) 987-7953; email: saint-amour.dave@uqam.ca

REFERENCE: Cartier, C., Muckle, G., Dewailly, E., Ayotte, P., Jacobson, S.W., Jacobson, J.L., Chevrier, C., Saint-Amour, D. (2014). Prenatal and 5-year *p,p'*-DDE exposures are associated with altered sensory processing in school-aged children in Nunavik: A visual evoked potential study. Neurotoxicology. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2014.04.009

2.1. Abstract

Due to their geographic location and traditional diet, rich in seafood and marine mammals, the Inuit living in Arctic Quebec are exposed to high amounts of pollutants, including organochlorine pesticides (OCPs). While the adverse developmental effects of these pesticides on child cognitive functions are well known, the effects of developmental exposure to OP on sensory processes have not been investigated. The aim of this longitudinal study was to assess the effects of prenatal and childhood exposure to 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethane (*p,p'*-DDT) and its major metabolite 1,1,-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (*p,p'*-DDE), on visual processing in Inuit children in Nunavik (Arctic Québec). *p,p'*-DDT and *p,p'*-DDE concentrations were determined from umbilical cord and 5- and 11-year plasma samples. Visual evoked potentials (VEPs) were successfully recorded in 150 children at four contrast levels (95%, 30%, 12%, and 4%). Hierarchical multiple regressions were conducted to determine the association between *p,p'*-DDT, or *p,p'*-DDE, exposure and VEPs while controlling for the effects of various confounders, including fish nutrients and other contaminants. *p,p'*-DDE measured in umbilical cord plasma was significantly related to the amplitude of the N150 response at the lowest contrast (4%). In addition, 5-year *p,p'*-DDE plasma concentration was significantly associated with decreased N75 amplitude. These findings indicate that *p,p'*-DDE exposure, both pre- and postnatally, during early childhood is associated with visual processing impairment later in life.

Keywords: Neurotoxicity, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, Visual Evoked Potentials, Sensory processing

2.2. Introduction

Organochlorine pesticides (OCPs) are widespread contaminants. These industrially synthesized chlorine compounds were used extensively in agriculture and residential settings from the 1930s to the mid-1980s. OCPs are included in the group of environmental endocrine disruptors known as persistent organic pollutants (POPs). Most of them have been banned under the international Stockholm Convention due to their persistence in the environment, their ability to be stored in fatty tissues, and their high toxicity for wildlife and humans, although some OCP continue to be used in industrialized and developing countries. Studies have demonstrated adverse associations of these chemicals with human health, including cancer (Cohn, Wolff, Cirillo et Sholtz, 2007; McGlynn et al., 2008; Multigner et al., 2010; Romieu, Hernandez-Avila, Lazcano-Ponce, Weber et Dewailly, 2000), as well as metabolic (Montgomery, Kamel, Saldana, Alavanja et Sandler, 2008; Patel, Bhattacharya et Butte, 2010), immune (Dewailly et al., 2000; Hermanowicz, Nawarska, Borys et Maslankiewicz, 1982), and reproductive (De Jager et al., 2006) dysfunctions.

During gestation, OCPs can reach the fetus by crossing the placenta (Sala et al., 2001; Shen et al., 2008). Postnatal exposure to these toxicants occurs via breastfeeding, and later in life through food, house dust (Abb et al., 2010), and water consumption (Diaz et al., 2009; Kaushik, Sharma et Kaushik, 2012). The adverse effects of prenatal exposure to these chemicals on neurodevelopment, especially child cognition and behaviors, are well documented (Korrick et Sagiv, 2008), and can be explained by the fact that the developing brain, from early embryologic life to adolescence, is extremely sensitive to toxic disturbances. Perturbations of complex maturational processes by OCP or other organochlorine compounds, such as polychlorinated biphenyls (PCBs), can lead to brain damage or more subtle functional alterations, which are detectable early in life and in later development (Grandjean et Landrigan, 2006; Jacobson et Jacobson, 1996).

In recent decades, prenatal exposure to various OCP has been related to impaired attention, working memory deficits (Puertas et al., 2010), hyporeflexia (Rogan et al., 1986), poorer social performance, and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms (Ribas-Fito et al., 2007). Numerous studies have focused on the effects of *p,p'*-DDT and its major metabolite, *p,p'*-DDE, on cognitive neurodevelopment. A prospective birth cohort study assessing child development in Spain showed an association between cord *p,p'*-DDEconcentration and mental and psychomotor development delays at age 13 months (Ribas-Fito et al., 2003). A follow-up study of these children 3 years later revealed an adverse impact of cord serum *p,p'*-DDT concentration on verbal, memory, and perceptual scores on the McCarthy Scales of Children's Abilities (Ribas-Fito et al., 2006). Other studies have found evidence of the adverse effects of prenatal exposure to *p,p'*-DDE and *p,p'*-DDT on psychomotor or mental development in childhood (Eskenazi et al., 2006; Torres-Sanchez et al., 2007). More recently, *in utero* DDE exposure was also related to ADHD-like behaviors in a cohort of 607 children aged from 7 to 11 years (Sagiv et al., 2010). The impact of *p,p'*-DDT or *p,p'*-DDE exposure on sensory development is unknown.

OCP are found in polar regions, where they are carried from industrialized and developing countries by marine and atmospheric currents and bioaccumulated in the food chain due to their lipophilic properties (Barrie et al., 1992). Given their geographic location and traditional diet of seafood and marine mammals, Inuit people living in Canada's Arctic Quebec, a region called Nunavik, are exposed to high levels of several environmental contaminants, including organochlorine compounds (Dewailly et al., 1993; Muckle et al., 2001). By way of comparison, prenatal exposure to organochlorine products is about two to three times higher in Nunavik than in other North American regions (Muckle et al., 2001). Prenatal exposure to organochlorine compounds,, in particular PCBs, has been related to alterations in

emotional (Plusquellec et al., 2010), cognitive, behavioral (Boucher et al., 2012) and visual functions (Saint-Amour et al., 2006). Using visual evoked potential (VEP) recordings, Saint-Amour et al. (2006) demonstrated impairments in visual brain function in preschool Inuit children in Nunavik relating to postnatal PCB exposure. However, using the same method, a follow-up VEP study in children aged 11 years found no significant effect from PCB exposure on visual processing (Ethier et al., 2012).

Scalp-recorded VEP is a sensitive and non-invasive electrophysiological method commonly used in pediatric populations to assess the maturation and functional integrity of brain processes (Otto, 1987). Alterations in VEP amplitude or latency are thought to reflect damage along visual pathways, including subclinical alterations in visual processing due to environmental contaminants (Ethier et al., 2012; Jacques et al., 2011; Murata et al., 1999; Saint-Amour et al., 2006). Compared to behavioral performance, using electrophysiological recording to assess sensory processes provides a more direct measure of brain function. Because vision depends on the maturation and integrity of the retina, optic tract, and visual cortex, measuring electrical visual activity may provide a more accurate picture of OCP exposure neurotoxicity, with the additional advantage of revealing subclinical effects.

A recent VEP study conducted in Nunavik to assess child visual development in relation to heavy metal and PCB exposure (Ethier et al., 2012) found that cord blood concentrations of lead and mercury were associated with decreased VEP amplitude in 11-year-old children. No significant association with PCB exposure was found. The aim of the present longitudinal study was to assess the relation of *p,p'*-DDT and its *p,p'*-DDE metabolite exposures with visual brain integrity by examining prenatal and childhood exposures. After PCBs, *p,p'*-DDT, and particularly *p,p'*-DDE, is the most prevalent organochlorine compound in Nunavik. Because the Inuit are exposed to

high amounts of omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs), due to their traditional seafood diet, and because n-3 PUFAs are widely recognized for their beneficial role in vision development and function (Molloy, Doyle, Makrides et Anderson, 2012; Morse, 2012), exposure to n-3-PUFAs was adjusted statistically in the data analysis, along with other potential confounding variables.

2.3. Methods

2.3.1 Participants

A total of 294 school-age Inuit children from Nunavik participated in an 11 follow-up study. From these children, 172 participated in the present VEP study (range = 10 to 13 years, mean ±standard deviation = 10.9 ±0.6) (see Ethier et al., 2012 for more details). These children were originally recruited under the 1993–1998 Cord Blood Monitoring Program, which aimed to document the exposure of Inuit newborns to environmental contaminants by using umbilical cord samples (Muckle, Dewailly et Ayotte, 1998). Three groups of Inuit mothers and their children were invited to participate in the 11-year follow-up assessment, according to the following categories: 1) children who had participated in the Environmental Contaminants and Child Development Study as infants (Jacobson et al., 2008; Muckle et al., 2001), 2) children who had participated in the Nunavik Preschool Study at age 5 years (Saint-Amour et al., 2006), and 3) children for whom cord blood samples were available but had not been previously tested. Mothers living in the three largest Nunavik villages were contacted by telephone, informed about the study procedures, and invited to participate. Inclusion criteria were 8.0 to 15.0 years of age, birth weight ≥ 2.5 kg, gestation duration ≥ 35 weeks, no known neurologic or clinically significant developmental disorder, and no use of medication at the time of testing. A maternal interview was conducted at the time of testing to collect information about tobacco, drug, and alcohol use during pregnancy, and to document potential confounding

variables, such as quality of parental intellectual function and sociodemographic and psychosocial factors. Written informed consent was obtained from one parent of each participant, and oral assent was obtained from each child. The research procedures were approved by the ethics committees of Wayne State University, Laval University, and Saint-Justine Hospital.

2.3.2. Visual Evoked Potentials

As described in detail in Ethier et al. (2012), a standard pattern reversal VEP procedure was used. Vertical sinusoidal gratings with a spatial frequency of 2.5 cycles per degree were presented using Presentation® software (Neurobehavioral Systems, Inc. San Paolo, CA) at a reversal rate of 1.1 Hz at four visual contrasts from high to low visibility, i.e., at 95, 30, 12 and 4%. Contrast was defined according to the Michelson's formula to keep the mean luminance constant: (maximal luminance - minimal luminance)/(maximal luminance + minimal luminance) x 100. Stimuli were presented to the children binocularly from a distance of 57 cm in a dimly lit room (24° × 24° of visual field). The experimenter was blind to participant information. Children were instructed to concentrate on a small red dot located at the center of the screen. The electro-oculograms (EOG) were recorded from the outer canthus of each eye (horizontal EOG) and above and below the right eye (vertical EOG). VEPs were scalp-recorded over the occipital central site (Oz derivation according to the International 10–20 system) with an Ag–AgCl electrode using InstEP software (InstEP Inc., Montreal, Canada). The reference and ground electrodes were located at the frontal central site (Fz derivation according to the International 10–20 system) and on the forehead, respectively. Impedance was kept below 5 kΩ. The electro-encephalogram (EEG) signal was amplified and band-pass filtered at 0.1–100 Hz. 100 trials were recorded at each contrast. Pattern reversal VEPs were time-locked to stimulus onset and averaged (sweep time, 500 ms; pre-stimulus delay, 50 ms;

sampling rate, 1000 Hz). Trials in which the response was higher than 75 μV at any recording site (horizontal EOG, vertical EOG, or Oz) were rejected before averaging to eliminate ocular and muscular artifacts. The following standard VEP components were examined: N75 (negative deflection at ≈ 75 ms after the stimulus onset), P100 (positive deflection at ≈ 100 ms after the stimulus onset), and N150 (negative deflection at ≈ 150 ms after the stimulus onset) (Odom et al., 2004). For each component, the latency, i.e., the time in ms from stimulus onset to the largest amplitude of a positive or negative deflection, was calculated as well as the amplitude (response intensity in μV) was calculated from baseline to peak. All EEG analyses were performed with Analyzer 2 software (Brain Products, Inc., Munich, Germany).

2.3.3 Biological measures

Documentation of prenatal exposure to several persistent organic pollutants was available from the Cord Blood Monitoring Program. The analyses were performed at the *Laboratoire de Toxicologie INSPQ*, which is accredited by the Canadian Association for Environmental Analytical Laboratories. Detailed analytical and quality control procedures have been described previously (Boucher, Bastien, Muckle, et al., 2010; Boucher, Bastien, Saint-Amour, et al., 2010; Boucher et al., 2009; Muckle et al., 2001; Rhainds, Levallois, Dewailly et Ayotte, 1999). The 14 most prevalent PCB congeners (IUPAC nos. 28, 52, 99, 101, 105, 118, 128, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187), and 11 organochlorine pesticides or their metabolites (aldrin, α-chlordane, β-chlordane, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, HCB, β-HCH, mirex, *cis*-nonachlor, *trans*-nonachlor, oxychlordane) were measured in purified plasma extracts using high-resolution gas chromatography (Hewlett-Packard HP5890A), with two capillary columns (Hewlett-Packard Ultra I and Ultra II) and dual Ni-63 electron capture detectors. PCB congener 153 was used as an indicator of total PCB exposure because it is highly correlated with other PCB congeners (Muckle et al., 2001) and is

considered an adequate marker of exposure to environmental PCB mixtures (Ayotte et al., 2003). Total Hg concentrations were determined in umbilical cord blood samples using cold vapor atomic absorption spectrometry (Pharmacia Model 120). Blood Pb levels were determined by graphite furnace atomic absorption with Zeeman background correction (Perkin Elmer model ZL 4100). Se concentrations were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) on a Perkin Elmer SciexElan 6000 instrument. The limits of detection (LODs) were 0.2 μg/dL for blood Hg and Pb, 0.1 μmol/L for Se, and 0.02 μg/L for all PCB congeners and 11 organochlorine pesticides or their metabolites (aldrin, α-chlordane, β-chlordane, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, HCB, β-HCH, mirex, *cis*-nonachlor, *trans*-nonachlor, oxychlordane) in plasma. Docosahexaenoic acid (DHA), an important omega-3 fatty acid, was measured in plasma phospholipids at the University of Guelph Lipid Analytical Laboratory (B.J. Holub), as described in Jacques et al. (2011).

Child exposure was measured through a venous blood sample (20 mL) at 5 and 11 years on the day of testing. Concentrations of PCB congeners, and 11 organochlorine pesticides or their metabolites (aldrin, α-chlordane, β-chlordane, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, HCB, β-HCH, mirex, *cis*-nonachlor, *trans*-nonachlor, oxychlordane) were measured in plasma extracts by gas chromatography (HP 5890 Series II Plus), equipped with a 30-m DB-5 (J&W Scientific) and HP 5890B mass spectrometer (Agilent). Compounds were automatically extracted from the aqueous matrix using solid phase extraction. LODs were less than 0.05 μg/L for all PCB congeners and OPs, except for PCB 52 (LOD = 0.15 μg/L). Total Hg, Pb and Se concentrations were determined in whole blood samples by ICP-MS (Perkin Elmer SciexElan 6000 ICP-MS instrument for Pb and Se; PE DRC II instrument for Hg). LODs were 0.002 μg/dL for Pb, 0.10 μg/L for Hg and 0.09 μmol/L for Se. DHA was measured in plasma phospholipids using the same procedure as described above for umbilical cord plasma samples. Whenever chemical analysis yielded a "not detected" result, a value equal to half the limit of detection of the analytical method was entered in the

database. All organochlorine compounds were expressed on a lipid basis for both prenatal and child exposures. For either prenatal or child exposure, OCPs that were not detected in more than 40% of the samples, that is aldrin, α-chlordane, β-chlordane, β-HCH and mirex, were not included in the statistical analyses. This 40% criterion is based on the practice of the Center for Disease Control and Prevention (CDC) (Sjodin et al., 2008; Wang, Jain, Wolkin, Rubin et Needham, 2009).

2.3.4 Confounding factors

Based on our previous VEP study (Ethier et al., 2012), the following potential confounding variables were examined: child's gender, age, and hemoglobin concentration at testing time, breastfeeding duration, maternal level of education, maternal parity, socioeconomic status of the primary caregiver (Hollingshead, 1975), maternal binge drinking episodes during pregnancy (yes/no) (> 5 standard drinks of alcohol per occasion) , maternal drug and tobacco uses during pregnancy (yes/no). Additional potential confounders included prenatal and current exposure to other environmental contaminants (mercury and lead) known to have a negative impact on visual processing or child development, as shown previously in this population (Ethier et al., 2012; Plusquellec et al., 2010; Saint-Amour et al., 2006). The major fish nutrients selenium and DHA were also examined, DHA being well known for its beneficial impact on visual system development (Cartier et Saint-Amour, *in press;* Jacques et al., 2011). Because oxychlordane, *cis*-nonachlore, *trans*-nonachlore and PCB153 were highly correlated with *p,p'*-DDT and *p,p'*-DDE (rs range: 0.54-0.94), they were not included in the regression models to avoid multicolinearity.

2.3.5 Statistical analysis

Because the amplitude of some VEP component is by definition negative (i.e., N75 and N150), the analyses were conducted on the absolute values to avoid any ambiguity and facilitate the interpretation of the regression results. Descriptive statistics of the children, contaminants, and VEPs were examined for potential outliers and skewed distributions. Non-normally distributed variables were log-transformed. Pearson's correlations were then computed to examine the pattern of correlations between the contaminants measured at birth and at the time of testing.

The following 3-step selection strategy was used to restrict the number of multiple regression models in order to minimize Type I error. First, similarly to the method used by Ethier et al. (2012), each VEP component for both latency and amplitude was tested using repeated-measure analysis of variance (ANOVA), in which the four levels of visual contrast (95, 30, 12 and 4%) served as a within-subjects measure, and the contaminant of interest (DDT or DDE at both cord or 11-year measurements) as a covariate. If the main or interaction (visual contrast level × contaminant) effect was significant ($p < 0.05$), the VEP outcome was then submitted to the next step, which consisted of running Pearson's correlation between the contaminant and the dependent variable at each contrast level. When the correlation was at $p < 0.20$, multiple linear regression was conducted. This selection method yielded a total of nine multiple linear regression models.

Multiple linear regression analyses were conducted following the hierarchical procedure used by Jacobson et al. (2008): 1) among the above-described control variables, each variable related to the VEP outcome of interest at $p < 0.20$ was selected; 2) the OCP variable was entered in the first step of the regression analysis and each potential confounder was then entered, starting with the confounder showing the highest correlation with the outcome and proceeding to the confounder showing the next highest correlation, etc.; 3) a confounder was retained in the model if its inclusion changed the association (standardized regression coefficient) between

the OCP variable and the VEP outcome by at least 10% at entry. The 0.20 alpha level and 10% change criteria were based on the work of Maldonado et Greenland (1993). Cook's distance was calculated for the final regression models to detect potential influential points, using a cut-off of $4 \times p/n$, where p is the number of predictors and n is the number of subjects in the model. A sensitivity analysis was then conducted by re-running the model, omitting participants with influential points. The model was considered to be unduly influenced if the beta for a contaminant of interest changed by more than 10% without the influential points. Based on these criteria no participants were excluded from the regression analysis. The standardized residuals from each model were examined to check for model fit. All of the standardized residuals fell between -3.5 and 3.5.

2.4. Results

Children with abnormal visual acuity (≥ 20/30 on the Snellen E chart) were excluded from the analysis for the following reason. Abnormal acuity is mainly related to refraction errors in the focusing of light on the retina. In the other words, if vision is corrected with adequate glasses, visual acuity becomes instantly normal. Because refraction error has drastic effects on VEPs (latency is increased and amplitude is decreased), it is not possible to distinguish effects of refraction error from the effects of alteration of visual processing (at the retina or cortex level). Furthermore, there is no data in the literature showing that *p,p'*-DDT or *p,p'*-DDE exposure is related to visual acuity. Accordingly, we did not find any correlation between abnormal visual acuity and exposure, or a difference of contaminant concentration between participants with glasses and participants without glasses. Thus of the initial sample of 172 participants, 21 children were excluded from the analyses on this acuity criteria (and one was excluded due to lack of cooperation), ending in a final sample of 150 valid participants. Because the VEP results reported do not include participants

with apparent visual acuity deficits, any significant association in the present study is therefore revealing OCP subclinical neurotoxicity.

Descriptive statistics of the participants are presented in Table 2.1. Most of the characteristics of the 150 VEP study participants did not differ significantly from the 144 remaining children who were part of the 11-year follow up study, except for the selenium prenatal exposure and for marijuana use during pregnancy (Table 2.1). Girls and boys were equally represented in the sample (50.7% girls, 49.3% boys). Median breastfeeding duration was 3 months. Of the mothers, 81.1% reported smoking during pregnancy on a regular basis, and 49.2% reported consuming alcohol during pregnancy.

2.4.1 Contaminants and nutrient exposures

As presented in Table 2.2, intercorrelations between cord blood and 11-year blood concentrations ranged from moderate to high. Intercorrelations between *p,p'*-DDT and *p,p'*-DDE were mostly moderate (rs range: 0.42–0.71; median = 0.48). On the other hand, oxychlordane, *cis*-nonachlore, *trans*-nonachlore and PCB153 were moderately to highly correlated with *p,p'*-DDT or *p,p'*-DDE atbirth (rs range: 0.57-0.89; median = 0.78) and at 11 years (rs range: 0.54-0.94; median = 0.82). Organochlorine compound concentrations (*p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, oxychlordane, *cis*-nonachlore, *trans*-nonachlore and PCB153) measured at birth were weakly to moderately correlated with 11-year organochlorine compound concentrations (rs range: 0.41-0.57; median = 0.46).

Mean concentrations and ranges of *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, PCB153, Pb and Hg, as well as nutrients are reported in Table 3. *p,p'*-DDE was found in all umbilical cords and childhood plasma samples, whereas *p,p'*-DDT was detected in 79.9% of

umbilical cord samples and 69.4% of plasma samples at age 11. Mean *p,p'*-DDT concentrations at birth and age 11 were 24.45, and 6.93 µg/kg plasma lipids, respectively. Mean *p,p'*-DDE concentration at birth was 509.27, whereas *p,p'*-DDE concentrations at age 11 were approximately half of these values at 268.54 µg/kg plasma lipids .

2.4.2 Associations of p,p'-DDT and p,p'-DDE exposure with VEP

Multivariate linear regression analyses were conducted to examine the association between contaminants and VEPs by taking account of the control variables according to a change-in-estimate approach (see method section for details). Only final regression models with a p-value < 0.2 are shown in Table 2.3. After adjusting for confounders, umbilical cord *p,p'*-DDE plasma concentration was significantly associated with increased N150 amplitude at the lowest contrast (4%) (see Figure 2.1A). The β coefficients indicate that an increase of *p,p'*-DDE concentration of one logarithm unit is associated with an increase in amplitude of 0.72 µV (i.e., 0.28 SD). Prenatal *p,p'*-DDE exposure was also associated with increased N150 at the 95% contrast level, but that effect fell short of statistical significance. No association was detected with current *p,p'*-DDT or *p,p'*-DDE plasma concentrations.

Considering the important visual system reorganisation occurring during the first years of life, and knowing the greater vulnerability to neurotoxic insult during development, we asked whether DDT and DDE exposure during this period could also alter 11-year VEPs. Thus, because these contaminants were also measured at age 5 years in a subsample of the children (n = 56) taking part in the present VEP follow-up study, we conducted further analyses to assess the association between *p,p'*-DDT and *p,p'*-DDE concentrations at preschool aged and VEP measured at age 11. Of note, the VEP responses of these 56 children, either in terms of amplitude or latency,

were comparable to those of the other children in the sample ($p > 0.05$). Multiple regressions revealed that N75 amplitude at mid-contrast (30 %) was significantly decreased with increasing *p,p'*-DDE plasma concentration at age 5 (see Figure 2.1B). The β coefficients indicate that an increase of *p,p'*-DDE concentration of one logarithm unit is associated with a decrease in amplitude on the order of 1.44 μV. Interestingly, *p,p'*-DDE concentration at age 5 was very well predicted by cord *p,p'*-DDE concentrations and breastfeeding duration. Cord *p,p'*-DDE (standardized $\beta = 0.43$ $p < 0.0001$) and breastfeeding duration (standardized $\beta = 0.59$, $p < 0.000001$) accounted for 54% of the total variance in plasma *p,p'*-DDE at age 5, whereas 5-year *p,p'*-DDT concentration was very well predicted by cord *p,p'*-DDT concentrations (standardized $\beta = 0.52$, $p < 0.000001$), but not at all by breastfeeding duration (standardized $\beta = 0.14$, ns).

2.5. Discussion

The aim of this study was to assess the potential neurotoxic impact of prenatal and childhood exposure to organochlorine pesticides on visual processing in children. After controlling for the influence of socioeconomic factors, other environmental contaminants and nutrients, such as DHA, we found subtle and subclinical *p,p'*-DDE relation to visual processing. Indeed significant associations were found between *p,p'*-DDE prenatal and early childhood exposure and VEP responses at age 11 years. Prenatal *p,p'*-DDE exposure was significantly associated with increased N150 amplitude at the lowest visual contrast, whereas *p,p'*-DDE exposure measured at age 5 years, which mainly reflects cumulative prenatal and infancy exposures, was significantly related to decreased N75 amplitude. One limitation of our study is the multiple comparisons involved in the analysis that was not corrected considering that correction methods are often too conservative for epidemiological studies (which may

result in Type 2 error). As a consequence, we cannot exclude the possibility that some of our significant results are due to chance (Type 1 error).

Functional (Bradley et Freeman, 1982; Ellemberg, Lewis, Liu et Maurer, 1999) and anatomical (de Courten et Garey, 1983; Huttenlocher, de Courten, Garey et Van der Loos, 1982) data indicate that visual processes develop from the embryologic period and only reach an adult-like state at approximately 8 to 9 years of age. Our results therefore concur with the body of evidence indicating greater brain vulnerability to toxic insult during prenatal and early childhood periods (Grandjean et Landrigan, 2006; Rice et Barone, 2000). Indeed, toxic interference with sequence events underlying brain development can result in brain alterations even if the chemicals have no effect on a mature brain (Grandjean et Landrigan, 2006; Rice et Barone, 2000). Because vision develops during the perinatal and early childhood period, these periods appears to be a critical time for *p,p'*-DDT and *p,p'*-DDE exposure. p,p'-DDT and p,p'-DDE are recognized endocrine disruptors, and are reported to alter estrogen, androgen, and thyroid functions (Danzo, 1997; Facemire, Gross et Guillette, 1995; Fry et Toone, 1981; Gray et al., 2001; Guillette et al., 1994; Kelce et al., 1995; Moccia, Fox et Britton, 1986; T, 1992). Given the importance of steroid and thyroid hormones for orchestrating the complex temporal and regional processes of brain development, including cell proliferation, migration, differentiation, synaptogenesis, and myelinization (Beyer, 1999; Howdeshell, 2002; Porterfield et Hendrich, 1993; Thompson et Potter, 2000), the p,p'-DDT and p,p'-DDE association with visual function may result, at least in part, from interference with endocrine functions (Colborn, 2004; Howdeshell, 2002; Weiss, 2011). A more direct mechanism of action of p,p'-DDE exposure on brain development may relate to its capacity to induce sustained hyperexcitability. Thus, p,p'-DDT keeps voltage gated sodium channels open, thereby prolonging neuron depolarization, leading to central nervous system hyperexcitability (Davies, Field, Usherwood et Williamson, 2007; Narahashi et Haas,

1967). This may also occur by interfering with K+ and Ca+ transport across neural membranes via ATPase inhibition (Matsumura et Narahashi, 1971; Matsumura et Patil, 1969). These hyperexcitability states lead to different neurotoxic processes, including apoptotic cell death.

To our knowledge, only one study has assessed VEP responses associated with *p,p'*-DDE exposure in early childhood (Riva et al., 2004). In that study, *p,p'*-DDE and *p,p'*-DDT concentrations in maternal milk were significantly correlated with increased P100 latency at age 12 months. However, after controlling for DHA concentrations measured in children's blood samples, mother's age, and area of residence, the partial correlation coefficient was no longer significant. Our contrasting results may be explained by different protocols and outcomes of interest. Riva et al. only assessed the P100 evoked at maximum contrast (100%), with no measure of amplitude (only latency was considered). Because most of the significant associations between *p,p'*-DDE exposure and VEP in the present study were revealed at mid- and low-contrast, our results underscore the need to use a VEP protocol with different contrasts to assess subtle differences in the developmental neurotoxicity of pollutants.

In the current study, *p,p'*-DDE was associated with both increased and decreased VEP amplitude. In fact, the scalp-recorded VEP signal results from a summation of the excitatory and inhibitory postsynaptic potentials, and is generated by the synchronized activation of thousands of neurons. More specifically, VEP amplitude reflects both the numbers of neurons activated and the synchronization of their activity in response to visual stimulation (Luck, 2005). Our results therefore suggest that *p,p'*-DDE alters the complex neuronal network organization and/or function in the visual cortex. There is consensus that the early component N75 represents mainly primary visual cortex (V1) activity and is related to the information conduction time

from retina to V1 (Di Russo, Martinez, Sereno, Pitzalis et Hillyard, 2002; Di Russo et al., 2005; Saint-Amour, Saron, Schroeder et Foxe, 2005), and that the P100 and N150 components are dependent on both striate and extrastriate area activation (Di Russo et al., 2002; Di Russo et al., 2005; Saint-Amour et al., 2005). Consequently, the association of prenatal *p,p'*-DDE exposure with N150 alteration suggests that the *p,p'*-DDE impact extends to extrastriate structures. Because the visual cortex undergoes important restructuration between the embryologic period and the first few years of life, mainly due to synaptic remodeling and elimination in response to the visual environment (Huttenlocher et al., 1982), our findings support the concept of greater vulnerability to toxicant exposure during critical periods of brain plasticity.

Due to the high intercorrelation between *p,p'*-DDE or *p,p'*-DDT and other organochlorine compounds the respective association with each of these compounds is statistically difficult to dissociate. Indeed, VEP alteration associated with *p,p'*-DDE prenatal exposure could not be specific to this chemical but also attributable to other organochlorine compounds. In addition, because of the long half-life of these contaminants (i.e., many years), VEP alterations associated with *p,p'*-DDE plasma concentrations at age 5 years could be attributable to bioaccumulative exposure to organochlorine compounds from infancy through breastfeeding and the traditional marine diet. It is noteworthy that cord PCB 153 concentrations were not significantly correlated with N150 amplitude ($r = -0.08$, data not shown), suggesting that the association between the N150 response and cord plasma *p,p'*-DDE is not mediated by PCB exposure. This result concurs with Ethier et al. (2012), who, using the same dataset as the present study, found no significant association between prenatal (or postnatal) exposure to PCB 153 and VEP responses at age 11 years.

Although *p,p'*-DDT was banned in many countries a few decades ago, the *p,p'*-DDT molecule in the present study in Nunavik was clearly detected in 80% and 70% of cord and childhood plasma samples, respectively. Moreover, its breakdown product

p,p'-DDE was detected and quantified in 100% of plasma samples. Our findings suggest that the *p,p'*-DDE, not *p,p'*-DDT, exposure concentrations present in Nunavik are capable of altering visual processing development. Regarding *p,p'*-DDT, it is important to note that the data distribution may have been biased by the fact that about 30% of the data was under the detection limit level. In this case, a value equal to half the limit of detection of the analytical method was used, which affected the variance, the mean and the distribution of the data. Although the skewed-distribution criterion was respected, this procedure may have affected our results and may explain why no association was found with *p,p'*-DDT. Another factor that may have affected our results is the *a priori* exclusion of participants who were premature or of low birth weight. Indeed, there is a possibility that these neurodevelopmental disorders were in the causal pathway between exposure and VEPs, which may have led to an underestimation of the associations. Our design did not allow testing this hypothesis because no follow-up study was conducted on these excluded participants.

Recent biomonitoring reports allow comparing Nunavik concentrations with those in the general population. Data from the *Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada,* obtained between 2007 and 2009, indicate that the *p,p'*-DDE geometric mean of the Canadian population aged 20–39 years was 94.68 µg/kg plasma lipids (HealthCanada, 2010). Similar exposures were measured from 2003 to 2004 in the U.S. population (CDC, 2009) including age group from 12 to 19 years old, which is more comparable to the present 11-year blood sample. The *p,p'*-DDE geometric mean in this U.S. population was 105 µg/kg plasma lipids, or 43% lower than that found in 11-year-olds in Nunavik (185.25 µg/kg plasma lipids). Although cord and 5-year-old blood concentrations are not available in the U.S. or Canadian general populations, it is noteworthy that the *p,p'*-DDE concentration measured at age 11 years in our study corresponds closely to the 75th percentile of the U.S. 12–19-year-old population (167 µg/kg plasma lipids; 95% confidence interval = 123–240 µg/kg plasma lipids). These data suggested that around 25% of

the general population may be exposed to *p,p'*-DDE concentrations in the range of those found in Nunavik. Of note, *p,p'*-DDE cord concentration in Nunavik are similar or even lower than cord concentrations found in other countries (Adetona et al., 2013; Patayova et al., 2013; Qu, Suri, Bi, Sheng et Fu, 2010; Tan, Loganath, Chong et Obbard, 2009; Valvi et al., 2012). In other words, many populations may be exposed to *p,p'*-DDE concentrations sufficient to potentially impair the development of visual processing.

The current study shows that *p,p'*-DDE exposure both pre- and postnatally during the first years of life may impair visual processing in pre-adolescent children. To our knowledge, this is the first study to demonstrate subclinical alterations in visual system function in children exposed to pesticides throughout their childhood development. Although this deficit is subclinical, it may reflect neuronal insults and subtle brain organisation damage resulting from *p,p'*-DDT/ *p,p'*-DDE neurotoxicity. Clinical manifestations of such neurotoxocity may be temporarily masked by compensatory processes and become more apparent with natural age-related decline of functions (Rice, 1998). Moreover, this subclinical toxicity may lead to more children with clinical deficits when a larger part of the population is considered (Rice, 1998). In other words, our finding may have more meaning when interpreted at a population level. Therefore, in order to have a more accurate global picture of the integrity of brain function in children with relation to environmental contaminants, it is important, when assessing OCP developmental neurotoxicity, to consider sensory function in addition to cognitive functions.

2.6. Acknowledgements

We are grateful to the Inuit population in Nunavik for participating in this study. We also thank the medical and health care professionals at the village health centers and

nursing stations for their invaluable assistance. We gratefully acknowledge the long-time support of the municipal councils of Puvirnituq, Inukjuaq, and Kuujuaq, the Centre de Toxicologie du Québec, the Public Health Department of Nunavik, and the Nunavik Nutrition and Health Committee. We thank Renee Sun, Line Roy, Johanne Varin, Brenda Tuttle, Jocelyne Gagnon and Neil Dodge for their involvement in data collection and data management.

This research was supported by the National Institute of Environmental Health and Sciences / U.S. National Institutes of Health (R01 ES07902 to J.L.J.), Indian and Northern Affairs Canada – Northern Contaminants Program (G.M.), a Joseph Young, Sr., grant from the State of Michigan (S.W.J.), the Canadian Institutes of Health Research (D. S-A.), and the Nunavik Regional Board of Health and Social Services.

2.7. References

Abb M, Breuer JV, Zeitz C, Lorenz W. Analysis of pesticides and PCBs in waste wood and house dust. Chemosphere. 2010;81:488-93.

Adetona O, Horton K, Sjodin A, Jones R, Hall DB, Aguillar-Villalobos M, et al. Concentrations of select persistent organic pollutants across pregnancy trimesters in maternal and in cord serum in Trujillo, Peru. Chemosphere. 2013.

Ayotte P, Muckle G, Jacobson JL, Jacobson SW, Dewailly E, Inuit Cohort S. Assessment of pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls: lessons from the Inuit Cohort Study. Environ Health Perspect. 2003;111:1253-8.

Barrie LA, Gregor D, Hargrave B, Lake R, Muir D, Shearer R, et al. Arctic contaminants: sources, occurrence and pathways. Sci Total Environ. 1992;122:1-74.

Beyer C. Estrogen and the developing mammalian brain. Anatomy and embryology. 1999;199:379-90.

Boucher O, Bastien CH, Muckle G, Saint-Amour D, Jacobson SW, Jacobson JL. Behavioural correlates of the P3b event-related potential in school-age children. International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology. 2010a;76:148-57.

Boucher O, Bastien CH, Saint-Amour D, Dewailly E, Ayotte P, Jacobson JL, et al. Prenatal exposure to methylmercury and PCBs affects distinct stages of information processing: An event-related potential study with Inuit children. Neurotoxicology. 2010b;18:18.

Boucher O, Burden MJ, Muckle G, Saint-Amour D, Ayotte P, Dewailly E, et al. Response inhibition and error monitoring during a visual go/no-go task in inuit children exposed to lead, polychlorinated biphenyls, and methylmercury. Environ Health Perspect. 2012;120:608-15.

Boucher O, Muckle G, Saint-Amour D, Dewailly E, Ayotte P, Jacobson SW, et al. The relation of lead neurotoxicity to the event-related potential P3b component in Inuit children from arctic Quebec. Neurotoxicology. 2009;30:1070-7.

Bradley A, Freeman RD. Contrast sensitivity in children. Vision research. 1982;22:953-9.

Carter RC, Jacobson SW, Molteno CD, Chiodo LM, Viljoen D, Jacobson JL. Effects of prenatal alcohol exposure on infant visual acuity. J Pediatr. 2005;147:473-9.

Cartier C, Saint-Amour D. Prenatal Omega-3 Fatty Acids Intake and Visual Function. In: Preedy V, editor. Nutrition, Diet, the Eye and Vision: Elsevier; *in press*.

CDC. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Center for Disease Control and Prevention; 2009.

Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. Environ Health Perspect. 2007;115:1406-14.

Colborn T. Neurodevelopment and endocrine disruption. Environ Health Perspect. 2004;112:944-9.

Danzo BJ. Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. Environ Health Perspect. 1997;105:294-301.

Davies TG, Field LM, Usherwood PN, Williamson MS. DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. IUBMB life. 2007;59:151-62.

de Courten C, Garey LJ. [Morphological development of the primary visual pathway in the child]. Journal francais d'ophtalmologie. 1983;6:187-202.

De Jager C, Farias P, Barraza-Villarreal A, Avila MH, Ayotte P, Dewailly E, et al. Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: a cross-sectional study. J Androl. 2006;27:16-27.

Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Gingras S, Belles-Isles M, Roy R. Susceptibility to infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorines. Environ Health Perspect. 2000;108:205-11.

Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Laliberte C, Muir DC, Norstrom RJ. Inuit exposure to organochlorines through the aquatic food chain in arctic quebec. Environ Health Perspect. 1993;101:618-20.

Di Russo F, Martinez A, Sereno MI, Pitzalis S, Hillyard SA. Cortical sources of the early components of the visual evoked potential. Human brain mapping. 2002;15:95-111.

Di Russo F, Pitzalis S, Spitoni G, Aprile T, Patria F, Spinelli D, et al. Identification of the neural sources of the pattern-reversal VEP. NeuroImage. 2005;24:874-86.

Diaz G, Ortiz R, Schettino B, Vega S, Gutierrez R. Organochlorine pesticides residues in bottled drinking water from Mexico City. Bulletin of environmental contamination and toxicology. 2009;82:701-4.

Ellemberg D, Lewis TL, Liu CH, Maurer D. Development of spatial and temporal vision during childhood. Vision research. 1999;39:2325-33.

Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Fenster L, Johnson C, Barr DB, et al. In utero exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and neurodevelopment among young Mexican American children. Pediatrics. 2006;118:233-41.

Ethier AA, Muckle G, Bastien C, Dewailly E, Ayotte P, Arfken C, et al. Effects of environmental contaminant exposure on visual brain development: a prospective electrophysiological study in school-aged children. Neurotoxicology. 2012;33:1075-85.

Facemire CF, Gross TS, Guillette LJ, Jr. Reproductive impairment in the Florida panther: nature or nurture? Environ Health Perspect. 1995;103 Suppl 4:79-86.

Fry DM, Toone CK. DDT-induced feminization of gull embryos. Science. 1981;213:922-4.

Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. Lancet. 2006;368:2167-78.

Gray LE, Ostby J, Furr J, Wolf CJ, Lambright C, Parks L, et al. Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. Human reproduction update. 2001;7:248-64.

Guillette LJ, Jr., Gross TS, Masson GR, Matter JM, Percival HF, Woodward AR. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ Health Perspect. 1994;102:680-8.

HealthCanada. Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada. Health Canada; 2010.

Hermanowicz A, Nawarska Z, Borys D, Maslankiewicz A. The neutrophil function and infectious diseases in workers occupationally exposed to organochloride insecticides. Int Arch Occup Environ Health. 1982;50:329-40.

Howdeshell KL. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. Environ Health Perspect. 2002;110 Suppl 3:337-48.

Huttenlocher PR, de Courten C, Garey LJ, Van der Loos H. Synaptogenesis in human visual cortex--evidence for synapse elimination during normal development. Neuroscience letters. 1982;33:247-52.

Jacobson JL, Jacobson SW. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. N Engl J Med. 1996;335:783-9.

Jacobson JL, Jacobson SW, Muckle G, Kaplan-Estrin M, Ayotte P, Dewailly E. Beneficial effects of a polyunsaturated fatty acid on infant development: evidence from the inuit of arctic Quebec. J Pediatr. 2008;152:356-64.

Jacques C, Levy E, Muckle G, Jacobson SW, Bastien C, Dewailly E, et al. Long-term effects of prenatal omega-3 fatty acid intake on visual function in school-age children. J Pediatr. 2011;158:83-90, e1.

Kaushik CP, Sharma HR, Kaushik A. Organochlorine pesticide residues in drinking water in the rural areas of Haryana, India. Environmental monitoring and assessment. 2012;184:103-12.

Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kemppainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. Nature. 1995;375:581-5.

Korrick SA, Sagiv SK. Polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and neurodevelopment. Curr Opin Pediatr. 2008;20:198-204.

Luck SJ. An introduction to the event-related potential technique: The Massachussets Institute of Technology Press; 2005.

Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. Am J Epidemiol. 1993;138:923-36.

Matsumura F, Narahashi T. ATPase inhibition and electrophysiological change caused by DDT and related neuroactive agents in lobster nerve. Biochemical pharmacology. 1971;20:825-37.

Matsumura F, Patil KC. Adenosine triphosphatase. Sensitive to DDT in synapses of rat brain. Science. 1969;166:121-2.

McGlynn KA, Quraishi SM, Graubard BI, Weber JP, Rubertone MV, Erickson RL. Persistent organochlorine pesticides and risk of testicular germ cell tumors. Journal of the National Cancer Institute. 2008;100:663-71.

Moccia RD, Fox GA, Britton A. A quantitative assessment of thyroid histopathology of herring gulls (Larus argentatus) from the Great Lakes and a hypothesis on the causal role of environmental contaminants. Journal of wildlife diseases. 1986;22:60-70.

Molloy C, Doyle LW, Makrides M, Anderson PJ. Docosahexaenoic Acid and Visual Functioning in Preterm Infants: A Review. Neuropsychology review. 2012.

Montgomery MP, Kamel F, Saldana TM, Alavanja MC, Sandler DP. Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural Health Study, 1993-2003. Am J Epidemiol. 2008;167:1235-46.

Morse NL. Benefits of Docosahexaenoic Acid, Folic Acid, Vitamin D and Iodine on Foetal and Infant Brain Development and Function Following Maternal Supplementation during Pregnancy and Lactation. Nutrients. 2012;4:799-840.

Muckle G, Ayotte P, Dewailly EE, Jacobson SW, Jacobson JL. Prenatal exposure of the northern Quebec Inuit infants to environmental contaminants. Environ Health Perspect. 2001;109:1291-9.

Muckle G, Dewailly E, Ayotte P. Prenatal exposure of Canadian children to polychlorinated biphenyls and mercury. Canadian journal of public health Revue canadienne de sante publique. 1998;89 Suppl 1:S20-5, 2-7.

Multigner L, Ndong JR, Giusti A, Romana M, Delacroix-Maillard H, Cordier S, et al. Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. J Clin Oncol. 2010;28:3457-62.

Murata K, Weihe P, Renzoni A, Debes F, Vasconcelos R, Zino F, et al. Delayed evoked potentials in children exposed to methylmercury from seafood. Neurotoxicology and teratology. 1999;21:343-8.

Narahashi T, Haas HG. DDT: interaction with nerve membrane conductance changes. Science. 1967;157:1438-40.

Odom JV, Bach M, Barber C, Brigell M, Marmor MF, Tormene AP, et al. Visual evoked potentials standard (2004). Documenta ophthalmologica Advances in ophthalmology. 2004;108:115-23.

Otto DA. The assessment of neurotoxicity in children. Electrophysiological methods. Monogr Am Assoc Ment Defic. 1987:139-58.

Patayova H, Wimmerova S, Lancz K, Palkovicova L, Drobna B, Fabisikova A, et al. Anthropometric, socioeconomic, and maternal health determinants of placental transfer of organochlorine compounds. Environmental science and pollution research international. 2013.

Patel CJ, Bhattacharya J, Butte AJ. An Environment-Wide Association Study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. PLoS One. 2010;5:e10746.

Plusquellec P, Muckle G, Dewailly E, Ayotte P, Begin G, Desrosiers C, et al. The relation of environmental contaminants exposure to behavioral indicators in Inuit preschoolers in Arctic Quebec. Neurotoxicology. 2010;31:17-25.

Porterfield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development--current perspectives. Endocrine reviews. 1993;14:94-106.

Puertas R, Lopez-Espinosa MJ, Cruz F, Ramos R, Freire C, Perez-Garcia M, et al. Prenatal exposure to mirex impairs neurodevelopment at age of 4 years. Neurotoxicology. 2010;31:154-60.

Qu W, Suri RP, Bi X, Sheng G, Fu J. Exposure of young mothers and newborns to organochlorine pesticides (OCPs) in Guangzhou, China. Sci Total Environ. 2010;408:3133-8.

Rhainds M, Levallois P, Dewailly E, Ayotte P. Lead, mercury, and organochlorine compound levels in cord blood in Quebec, Canada. Archives of environmental health. 1999;54:40-7.

Ribas-Fito N, Cardo E, Sala M, Eulalia de Muga M, Mazon C, Verdu A, et al. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. Pediatrics. 2003;111:e580-5.

Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Julvez J, Grimalt JO, Sunyer J. Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy and children's social behavior at 4 years of age. Environ Health Perspect. 2007;115:447-50.

Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Munoz-Ortiz L, Julvez J, Grimalt JO, et al. In utero exposure to background concentrations of DDT and cognitive functioning among preschoolers. Am J Epidemiol. 2006;164:955-62.

Rice D, Barone S, Jr. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. Environ Health Perspect. 2000;108 Suppl 3:511-33.

Rice DC. Issues in developmental neurotoxicology: interpretation and implications of the data. Canadian journal of public health Revue canadienne de sante publique. 1998;89 Suppl 1:S31-6, S4-40.

Riva E, Grandi F, Massetto N, Radaelli G, Giovannini M, Zetterstrom R, et al. Polychlorinated biphenyls in colostral milk and visual function at 12 months of life. Acta paediatrica. 2004;93:1103-7.

Rogan WJ, Gladen BC, McKinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J, et al. Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. J Pediatr. 1986;109:335-41.

Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber JP, Dewailly E. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. Am J Epidemiol. 2000;152:363-70.

Sagiv SK, Thurston SW, Bellinger DC, Tolbert PE, Altshul LM, Korrick SA. Prenatal organochlorine exposure and behaviors associated with attention deficit hyperactivity disorder in school-aged children. Am J Epidemiol. 2010;171:593-601.

Saint-Amour D, Roy MS, Bastien C, Ayotte P, Dewailly E, Despres C, et al. Alterations of visual evoked potentials in preschool Inuit children exposed to methylmercury and polychlorinated biphenyls from a marine diet. Neurotoxicology. 2006;27:567-78.

Saint-Amour D, Saron CD, Schroeder CE, Foxe JJ. Can whole brain nerve conduction velocity be derived from surface-recorded visual evoked potentials? A re-examination of Reed, Vernon, and Johnson (2004). Neuropsychologia. 2005;43:1838-44.

Sala M, Ribas-Fito N, Cardo E, de Muga ME, Marco E, Mazon C, et al. Levels of hexachlorobenzene and other organochlorine compounds in cord blood: exposure across placenta. Chemosphere. 2001;43:895-901.

Scher MS, Richardson GA, Robles N, Geva D, Goldschmidt L, Dahl RE, et al. Effects of prenatal substance exposure: altered maturation of visual evoked potentials. Pediatric neurology. 1998;18:236-43.

Shen H, Main KM, Andersson AM, Damgaard IN, Virtanen HE, Skakkebaek NE, et al. Concentrations of persistent organochlorine compounds in human milk and placenta are higher in Denmark than in Finland. Hum Reprod. 2008;23:201-10.

Sjodin A, Wong LY, Jones RS, Park A, Zhang Y, Hodge C, et al. Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyl (PBB) in the United States population: 2003-2004. Environ Sci Technol. 2008;42:1377-84.

Tan J, Loganath A, Chong YS, Obbard JP. Exposure to persistent organic pollutants in utero and related maternal characteristics on birth outcomes: a multivariate data analysis approach. Chemosphere. 2009;74:428-33.

Thompson CC, Potter GB. Thyroid hormone action in neural development. Cerebral cortex. 2000;10:939-45.

Torres-Sanchez L, Rothenberg SJ, Schnaas L, Cebrian ME, Osorio E, Del Carmen Hernandez M, et al. In utero p,p'-DDE exposure and infant neurodevelopment: a perinatal cohort in Mexico. Environ Health Perspect. 2007;115:435-9.

Valvi D, Mendez MA, Martinez D, Grimalt JO, Torrent M, Sunyer J, et al. Prenatal concentrations of polychlorinated biphenyls, DDE, and DDT and overweight in children: a prospective birth cohort study. Environ Health Perspect. 2012;120:451-7.

Wang RY, Jain RB, Wolkin AF, Rubin CH, Needham LL. Serum concentrations of selected persistent organic pollutants in a sample of pregnant females and changes in their concentrations during gestation. Environ Health Perspect. 2009;117:1244-9.

Weiss B. Endocrine disruptors as a threat to neurological function. Journal of the neurological sciences. 2011;305:11-2

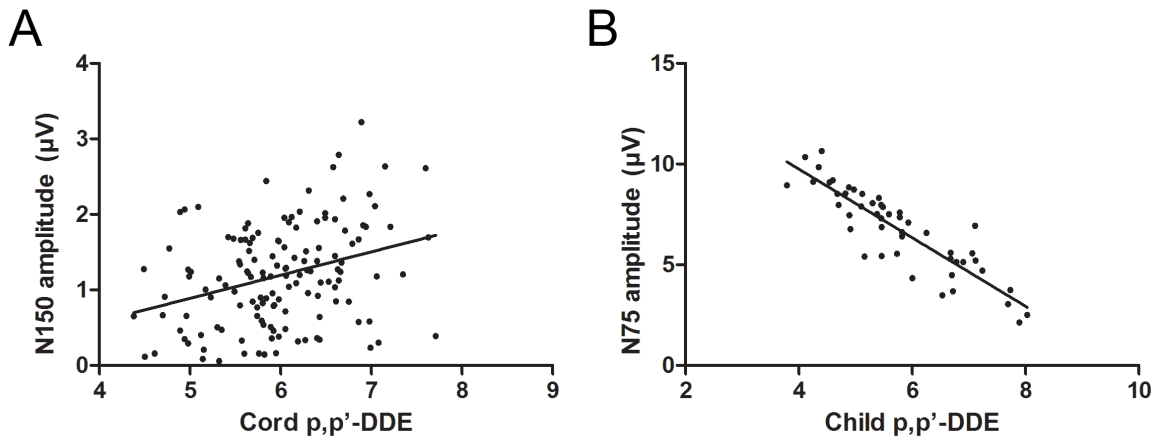


Figure 2.1 Scatterplots relating cord (A) and 5-year (B) p,p'-DDE exposures (μg/kg plasma lipids) to the VEP

Table 2.1 Descriptive statistics of the participants

	VEP participants			Other participants			Difference
	N	Mean (SD)	Range	N	Mean (SD)	Range	p value[1]
Child's characteristics							
Age at testing	150	11.3 (0.6)	9.8-12.9	144	11.2 (0.9)	8.5-14.3	0.47
Sex (%female)	150	50.7		144	49.3		0.82
Hemoglobin concentration at testing time (g/L)	147	130.6 (8.8)	105-149	144	128.4 (11.2)	85-152	0.06
Breastfeeding duration (months)	146	10.5 (17.3)	0-108	136	12.9 (15.9)	0-60	0.22
Primary caregiver's characteristics							
Parity	150	2.1 (1.8)	0-8	144	2 (1.9)	0-9	0.83
Number of years of schooling	149	8.3 (2.7)	0-16	144	8.6 (2.2)	0-13	0.35
Socio-economic status	150	29.5 (12.4)	8-66	144	27.2 (10.7)	8-54.5	0.09
Prenatale exposure							
Smoking during pregnancy (% yes)	143	81.1		143	88.2		0.07
Marijuana use during pregnancy (% yes)	117	23.9		134	40.3		0.01
Alcohol use during pregnancy (% yes)	118	49.2		135	51.9		0.67
p,p'-DDT (µg/kg plasma lipids)	146	24.5 (23.2)	4.5-160.4	136	21.2 (23.2)	4.2-191.4	0.24
p,p'-DDE (µg/kg plasma lipids)	146	509.3(395.3)	80.1-2239.1	136	462.7 (436)	51.2-3421.5	0.35
Selenium (µmol/L)	135	4.7 (2.5)	1.9-20	130	3.9 (1.9)	1.4-7.5	0.01
DHA (% phospholipids)	144	3.7 (1.3)	1.1-7.7	134	3.6 (1.2)	1.4-7.5	0.92

p,p'-DDT = 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane; p,p'-DDE = 1,1,-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene.

DHA = Docosahexaenoic acid.

[1] T-tests and chi-sqared were used for parametric and non-parametric comparisons, respectively

Table 2.2 Intercorrelations among contaminants in cord and 11-year plasma samples

	p,p'-DDT		*p,p'*-DDE		Oxychlordane		*cis*-nonachlor		*trans*-nonachlor		PCB 153	
	Cord	11 years	Cord	11 years	Cord	11 years	Cord	11 years	Cord	11 years	Cord	11 years
p,p'-DDT												
Cord		0.49***	0.71***	0.48***	0.63***	0.51***	0.66***	0.51***	0.72***	0.53***	0.57***	0.41***
11 years			0.42***	0.67***	0.46***	0.64***	0.40***	0.74***	0.50***	0.73***	0.40***	0.54***
p,p'-DDE												
Cord				0.46***	0.84***	0.43***	0,77***	0.42***	0.87***	0.44***	0.89***	0.41***
11 years					0.46***	0.93***	0.43***	0.90***	0.49***	0.93***	0.44***	0.94***
Oxychlordane												
Cord						0.55***	0.85***	0.51***	0.96***	0.53***	0.88***	0.47***
11 years							0.48***	0.94***	0.56***	0.98***	0.46***	0.94***
cis-nonachlor												
Cord								0.49***	0.90***	0.57***	0.81***	0.42***
11 years									0.55***	0.98***	0.42***	0.84***
trans-nonachlor												
Cord											0.88***	0.47***
11 years												0.90***
PCB 153												
Cord												0.48***

Log transformations were performed for p,p'DDT, p,p'-DDE, Oxychlordane, *cis*-nonachlor, *trans*-nonachlor and PCB concentrations.

p,p'-DDT = 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane;

p,p'-DDE = 1,1,-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene;

PCB = Polychlorinated biphenyl congener IUPAC 153.

* $p < 0.05$.

** $p < 0.01$.

*** $p < 0.001$.

Table 2.3 Descriptive statistics for the biological samples

	N	Geometric Mean	Arithmetic Mean	SD	Range
Contaminants					
At birth (cord blood)					
p,p'-DDT (µg/kg plasma lipids)	146	18.27	24.45	23.20	4.46-160.40
p,p'-DDE (µg/kg plasma lipids)	146	399.26	509.27	395.31	80.10-2239.09
PCB-153 (µg/kg plasma lipids)	146	101.65	128.84	98.35	21.60-653.60
Pb (µmol/L)	147	0.18	0.22	0.15	0.04-0.94
Hg (nmol/L)	147	76.52	103.57	78.54	9-442
At 11 years (blood sample)					
p,p'-DDT (µg/kg plasma lipids)	144	5.28	6.93	5.68	1.52-43.55
p,p'-DDE (µg/kg plasma lipids)	146	185.25	268.54	265.14	30.43-1803.92
PCB-153 (µg/kg plasma lipids)	146	50.43	79.8	95.23	4.13-809.52
Pb (µmol/L)	147	0.10	0.12	0.11	0.02-0.62
Hg (nmol/L)	147	13.86	22.26	24.76	0.2-170
Nutrients					
At birth (cord blood)					
Selenium (µmol/L)	135	4.17	4.65	2.54	1.90-20
DHA (% phospholipids)	144	3.42	3.65	1.26	1.12-7.73
At 11 years (blood sample)					
Selenium (µmol/L)	147	2.33	2.52	1.26	0.86-12
DHA (% phospholipids)	145	2.18	2.37	0.97	0.60-5.51

p,p'-DDT = 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane;
p,p'-DDE = 1,1,-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene;
PCB = Polychlorinated biphenyl congener IUPAC 153; Pb = Lead; Hg = Mercury;
DHA = Docosahexaenoic acid.

Table 2.4 Regression coefficients of p,p'-DDT and p,p'-DDE after adjustment for confounding variables

	VEP outcome	Contrast	N	Beta[1]	p value	95% CI
Prenatal exposure						
Cord *p,p'*-DDE[a,b]	N150 amplitude	95%	134	1,06	0.086	-0.154 ; 2.269
Cord *p,p'*-DDE[a, c,d,e]	N150 amplitude	4%	140	0.721	0.036	0.048 ; 1.394
5 years exposure						
p,p'-DDE[c, f]	N75 amplitude	30%	49	-1.439	0.007	-2.461 ; -0.416
p,p'-DDT[d, g, c, h, i]	P100 latency	12%	52	1.513	0.188	-0.769 ; 3.794

p,p'-DDE = 1,1,-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene;
p,p'-DDT = 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane.
The order of the letters corresponds to the order of how the covariables were entered into the model, starting with the confounder showing the highest correlation with the outcome and proceeding to the confounder showing the next highest correlation: [a]parity, [b]smoking during pregnancy, [c]Pb 11 years, [d]Cord Pb, [e]Hg 11 years, [f]Cord selenium, [g]gender, [h]socio-economic status, [i]alcohol during pregnancy.
[1]Beta coefficients are unstandardized

CHAPITRE III

ARTICLE 2 – ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDE METABOLITES IN PRENATAL AND CHILDHOOD URINE SAMPLES AND INTELLIGENCE SCORES AT 6 YEARS OF AGE : RESULTS FROM THE MOTHER-CHILD PELAGIE COHORT (FRANCE)

Organophosphate Insecticide Metabolites in Prenatal and Childhood Urine Samples and Intelligence Scores at 6 Years of Age: Results from the Mother-Child PELAGIE Cohort (France)

Chloé Cartier,[1,2] Charline Warembourg,[1] Gaïd Le Maner-Idrissi,[3] Agnès Lacroix,[3] Florence Rouget,[1,4] Christine Monfort,[1] Gwendolina Limon,[5] Gaël Durand,[5] Dave Saint-Amour,[2,6] Sylvaine Cordier,[1] and Cécile Chevrier[1]

[1]INSERM U1085-IRSET, Université Rennes I, Rennes, France

[2]Département de psychologie, Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, Canada

[3]Centre de Recherches en Psychologie, Cognition et communication (CRPCC EA 1285), Université Rennes2, France

[4]"Bien Naître en Ille et Vilaine" network, Rennes, France

[5]LABOCEA Laboratoire, Plouzané, France

[6]Centre de recherche et département d'ophtalmologie, CHU Sainte-Justine, Montréal, (Québec), Canada

Corresponding author: Cécile Chevrier, INSERM U1085 - IRSET, Avenue du Prof. Léon Bernard, CS74312, 35043 RENNES Cedex, phone: (+33) 223236126, email : cecile.chevrier@inserm.fr

Acknowledgments: We are grateful to the gynecologists, obstetricians, ultrasonographers, midwives, pediatricians, psychologists, and families who participated in the study. We particularly thank Véronique Villalon, Catherine Nouyrigat and Jo Ann Cahn for their help and Mathilde Mordelet and Olivia Martin for the neuropsychological testing. GL and GD are employed by LABOCEA Company, Plouzane, France. This study received funding from the French National Research Agency (ANR-2010-PRSP-007) and the Fondation de France (FdF).

Conflict of interest statement: The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCE: Cartier, C., Warembourg, C., Le Maner-Idrissi, G., Lacroix, A., Rouget, F., Monfort, C., Limon, G., Durand, G., Saint-Amour, D., Cordier, S., Chevrier, C. (2016). Association between organophosphate insecticide exposure and children's cognitive development: results from the mother-child PELAGIE cohort. Environmental Health Perspective. doi: 10.1289/ehp.1409472

3.1. Abstract

Background: Several studies suggest that exposure to organophosphate insecticides (OP) during pregnancy impairs neurodevelopment in children.

Objectives: We evaluated associations between biomarkers of prenatal and postnatal OP exposure and cognitive function of 6-year-olds in a French longitudinal birth cohort.

Methods: In 2002-2006, the PELAGIE mother-child cohort enrolled pregnant women from Brittany. For a random subcohort, we measured nonspecific dialkylphosphate metabolites (DAP) of OP in one maternal urine sample, collected before 19 weeks' gestation, and in one urine sample collected from their 6-year-old children. Six subtests of the Wechsler Intelligence Scale for Children-4th edition (WISC-IV) was administered at 6 years to evaluate cognitive function (n=231). Linear regression models controlling for factors including maternal intelligence and the Home Observation for Measurement of the Environment score were used.

Results: WISC-IV scores were not significantly associated with prenatal or childhood total DAP metabolites. WISC verbal comprehension score was significantly higher in association with the highest maternal urinary concentrations of diethylphosphate metabolites (DE) (5.5; 95% CI: 0.8, 10.3 for > 13.2 nmol/L versus <LOQ), while WISC working memory score was significantly lower in association with the highest urinary concentrations of DE metabolites at age 6 years (–3.6; 95% CI: –7.8, –0.6 for > 11.1 nmol/L versus <LOD).

Conclusion: This study found no evidence that prenatal OP exposure adversely affected cognitive function in 6-year-olds, perhaps because of the higher population's socioeconomic status than in previous studies though other causal and non-causal

explanations are also possible. The negative association between WISC score and concurrent DE urinary concentrations requires replication by longitudinal studies investigating childhood OP exposure.

3.2. Introduction

Organophosphate insecticides (OP) are used on conventional agricultural crops and for residential and veterinary purposes. In France, these chemicals have been found in dietary products (Nougadere et al., 2012), outdoor air (Air Breizh 2012), and indoor environments; residues have been detected in house dust (Bouvier, Blanchard, Momas et Seta, 2006b; Fenske, Lu, Negrete et Galvin, 2013; Morgan et al., 2005) and indoor air (Bouvier et al., 2006b) and measured on the hands of both children and adults (Bouvier et al., 2006a). Accordingly, exposure to OP is thought to occur via dietary intake (Lu et al., 2008; Oates, Cohen, Braun, Schembri et Taskova, 2014), direct contact from domestic use, and proximity to spraying areas. Numerous biological monitoring studies show that OP exposure is widespread among children and pregnant women (Bradman et al., 2011; Bradman et al., 2005; Castorina et al., 2010). The finding of OP in amniotic fluid and meconium from newborns (Bradman et al., 2003; Koutroulakis et al., 2014; Whyatt et Barr, 2001) suggests that fetuses too are exposed to these chemicals. After birth, babies and toddlers can be exposed to OPs via breastfeeding (Bedi et al., 2013; Weldon et al., 2011) and repeated hand-to-mouth behavior.

OP insecticides are well-known neurotoxicants (Costa, 2006; Slotkin, Levin et Seidler, 2006). At high doses, these chemicals inhibit acetyl cholinesterase and thus result in a buildup of acetylcholine in synaptic junctions. At doses too low to inhibit acetyl cholinesterase, studies in animals indicate that OPs alter gene expression, reduce neuronal survival and differentiation, and influence non-cholinergic biochemical pathways (Costa, 2006; Slotkin, Tate, Ryde, Levin et Seidler, 2006). The association of chronic low doses of OP with child development is currently under active investigation. Because the brain is more vulnerable to neurotoxic insult during maturational and developmental processes (Grandjean et Landrigan, 2006; Rice et

Barone, 2000), perinatal and childhood exposures may constitute a window of higher susceptibility to neurotoxicity.

Several epidemiological studies report associations between perinatal OP exposure and adverse neurodevelopmental outcomes among children (Gonzalez-Alzaga et al., 2013). Using questionnaire-based assessment of occupational exposure, studies report that children exposed *in utero* to OP in their mothers' workplaces appear to have impaired visual memory (Handal et al., 2008; Harari et al., 2010) and altered motor function (Grandjean et al., 2006). Longitudinal birth cohort studies using maternal exposure biomarkers report that prenatal OP exposure has been associated with poorer reflexes in newborns (Engel et al., 2007; Young et al., 2005), mental and psychomotor developmental delays in children (Engel et al., 2011; Eskenazi et al., 2007; Llop et al., 2013; Rauh et al., 2006), lower social skills (Furlong et al., 2014; Handal et al., 2008), decreased intellectual functioning (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011) and higher rates of children who screen positive of symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder (Marks et al., 2010). These longitudinal cohort studies were all conducted in North America, and despite the variety of the neurodevelopmental tests used in these studies they have reached the same conclusions: prenatal OP exposure may be associated with developmental neurotoxicity.

The aim of this study was to investigate the association between prenatal and postnatal OP exposure assessed with urinary biomarkers and cognitive neurodevelopment in 6-year-old children from a European longitudinal study.

3.3. Methods

3.3.1. Population and study area

The PELAGIE cohort, which included 3421 pregnant women enrolled between May 2002 and February 2006 in Brittany (France), was established to assess the potential impact of environmental and occupational exposure to chemicals on pregnancy and child development. Brittany is an important French agricultural region with 65% of its area devoted to agriculture in 2006, in particular, maize, grains, and vegetables (Agreste Bretagne 2007). Pregnant women were enrolled before 19 weeks' gestation from the general population by obstetricians, gynecologists, or ultrasonographers at early visits for prenatal care. They were asked to complete a questionnaire including their home address, social, demographic, occupational, and medical characteristics, dietary habits (fish, fruit and vegetable, dairy products, eggs, meat, offal, and bread), and lifestyle. Most reported household use of insect control products during the pregnancy (Petit et al. 2012).

A subcohort of 601 women (18% of the total cohort) was randomly selected for biological assays from the cohort members who gave birth to a live-born singleton (Chevrier et al., 2011). For the present analysis, we excluded subcohort members if the child's gestational age at birth was < 35 weeks; if the child underwent neonatal hospitalization or resuscitation, or had hypoglycemia or a 5-minute Apgar score <7 at delivery; if the child was diagnosed with genetic anomalies; or the mother or child died after birth or the child was > 6 years of age at the time of the study (i.e., was born before September 2003). This left 477 eligible families. Among them, we were able to contact 373 families by telephone and invite them to participate in the neuropsychological examination (before the child reached 6 years and 3 months of age). Fifteen children had already undergone neuropsychological tests, mainly for speech therapy, and were thus excluded. Another 115 families refused to participate, mostly because of lack of time. The participation rate was 65% (243/373 families we could contact). Among these participants, 231 of the mothers had prenatal urinary samples available. At the time of the neuropsychological examination, all mothers

completed additional questionnaires about their 6-year-old child's environment and health. The study subjects gave informed consent before participating in this follow-up study and the appropriate French ethics committees approved all study procedures.

3.3.2. Measurements of OP exposure

At enrollment, pregnant women were asked to collect, at home, the first-morning-void urine sample into 10-mL vials (containing nitric acid to prevent bacterial multiplication). They returned the urine sample to the research laboratory by local mail, in a self-addressed pre-stamped package. At reception, samples were frozen at − 20 °C until shipment to the analysis laboratory. Children at age 6 were asked to provide the first-morning-void urine sample, which was provided to the psychologist at the time of the home visit. First-morning-void urine samples were chosen because they are more concentrated than urine samples collected at other times (Barr et al. 2005).

One urine sample from each mother and one from each child were analyzed for six nonspecific dialkylphosphate (DAP) metabolites of numerous OP insecticides (diethylphosphate (DEP), diethylthiophosphate (DETP), diethyldithiophosphate (DEDTP), dimethylphosphate (DMP), dimethylthiophosphate (DMTP) and dimethyldithiophosphate (DMDTP)). The chemical analyses were performed by the LABOCEA Institute (Plouzané, France) with solid-phase extraction (SPE) and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC/MSMS). The mothers' samples (10 mL) were analyzed in 2008 and the children's (1 mL) in 2013 with improved equipment.

The limits of quantification (LOQ) for the chemical analyses of maternal urine samples were 1.25, 1.7, 0.02, 0.2, 1, and 0.45 µg/L for, respectively, DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP, and DMDTP, and the coefficients of variation at LOQ respectively 19, 19, 20, 17, 19 and 20%. For the children's samples, values between the limit of detection (LOD) and the LOQ were available. The LODs were 0.2, 0.1, 0.005, 0.06, 0.32, and 0.13 µg/L, and the coefficients of variation 20, 17, 18, 16, 13 and 17% for, respectively, DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP, and DMDTP. For the sake of clarity, we will use LOD to refer to LOQ for maternal urinary samples in the rest of the manuscript.

Metabolite concentrations were converted from micrograms per liter to their molar concentrations (nanomoles per liter). Concentrations were summed to obtain overall concentrations of diethylphosphate metabolites (DE; sum of DEP, DETP, and DEDTP), dimethylphosphate metabolites (DM; sum of DMP, DMTP, and DMDTP), and all six nonspecific dialkylphosphate metabolites.

3.3.3. Neuropsychological assessment and questionnaires

The Wechsler Intelligence Scale for Children, 4th edition, French version, (WISC-IV) was used to assess children's cognitive functions at the age of 6 years (Wechsler 2003). Assessments were conducted at home by one of the two trained psychologists, blinded to the child's prenatal and current OP exposure. Six WISC-IV subtests were administered to assess cognitive abilities: 1) similarities, 2) vocabulary, 3) comprehension, 4) digit span, 5) letter-number sequencing, and 6) block design. Two scores were calculated with the age-standardized WISC-IV norms: 1) working memory score (digit span and letter-number sequencing subtests) and 2) verbal comprehension score (similarities, vocabulary, and comprehension subtests). Few children had incomplete testing because they expressed fatigue. For WISC-IV

working memory score, the letter-number sequencing subtest was missing for 8 children. For WISC-IV verbal comprehension score, missing values were due to missing comprehension subtest (n = 2) or to two missing subtests (comprehension and vocabulary, n=1). The scores were highly correlated with their respective subtests (Pearson's rho ranging from 0.74 to 0.89, all $p<0.0001$) allowing us to predict the missing scores from their available subtests with linear regression model. The second psychologist assessed simultaneously the verbal intellectual quotient (IQ) of the mother at the home, with the Wechsler Adult Intelligence Scale, 3rd edition (WAIS-III) (Wechsler 1997), as well as the family environment, with the Home Observation for Measurement of the Environment inventory (HOME) (Caldwell and Bradley 1984).

3.3.4. Potential covariables

The following potential confounding variables were chosen based on prior knowledge of factors influencing neurodevelopment: 1) maternal characteristics at inclusion (<19 weeks of gestation): mothers' age, education (university level or lower), tobacco and alcohol use during pregnancy (yes or no), usual consumption of fish (≥2 per week or less), usual fruit and vegetable consumption (≥ 3 per day or less), urinary creatinine levels (continuous variable), season of urine collection (spring, summer, autumn or winter), and parity (0 or ≥1); 2) family characteristics at the 6-year follow-up: marital status (living alone or not), maternal verbal IQ (continuous variable), HOME score (continuous variable), and number of children before the index child (continuous variable); 3) children's characteristics: breastfeeding duration (no, ≤16 weeks or >16 weeks), school (preschool or elementary school), and urinary creatinine levels; and 4) testing characteristics: psychologist testing the child and any disturbances during the testing (yes or no). Missing values for categorical covariates were imputed using the most common category (breastfeeding duration: n = 1, >16 weeks; school: n = 1,

primary school; mother's marital status: n = 8, married/cohabitating), and children with missing data urine creatinine (n = 3) were assumed to have the median value for all children (920 mg/L).

3.3.5. Statistical analysis

We examined the association between urinary concentrations of OP metabolites and WISC scores with two approaches. In the first, with no prior assumption about the shape of these relations, we categorized the urinary concentrations into three groups for DE: 1.values <LOD, 2. Values>LOD and ≤median, and 3. values>LOD and >median; we categorized the values for DAP and DM in tertiles with equal-sized groups; and we conducted linear regression models. For the second approach, we conducted restricted cubic spline regressions of continuous natural log-transformed concentrations to explore the possible dose-response relation and exploit the finer resolution of our exposure data. For these models, values <LOD were randomly imputed from a lognormal-probability distribution that was derived using a maximum-likelihood estimation method (Jin et al. 2011; with the PROC LIFEREG with SAS software). Spline model estimates with 95% CI were graphed (SAS macro %RCS_Reg; Desquilbet and Mariotti 2010) and the difference in the fit of the spline models and linear models was tested. If the nonlinear model did not significantly improve the model fit ($p > 0.05$), we also report coefficients from linear models of the log-transformed and imputed exposures. For both approaches, separate regression models were performed to estimate associations with DAP, DM, and DE metabolites, respectively. Models for each set of metabolites included both prenatal and childhood exposures (either categorical or splined) in the same model.

For linear regression model, covariates were selected if they were potential risk factors associated with both prenatal urinary concentrations and WISC scores at $p \leq$

0.15 (i.e., total HOME score, breastfeeding duration, and child school), or if they were risk factors highly associated with WISC scores ($p \leq 0.005$; i.e., maternal verbal IQ and education level, and the psychologist). Additional covariates and their potential confounding effects were then considered one by one in each multivariate model; they were retained if they modified the values of the coefficients of the prenatal exposure variable by ≥10%. To investigate the association between OP postnatal exposure and WISC scores, the children's OP metabolite urinary concentrations were forced in the final regression models, as were the mothers' and children's creatinine levels. For spline models, adjustments were similar to those used in the linear regression models.

Because associations have been reported between prenatal DAP urinary concentrations and birth weight (Rauch et al., 2012; Whyatt et al., 2004), the latter may lie on the causal pathway between exposure and cognitive scores. Thus, in additional analyses, the final regression models were rerun with birth weight as a covariate. Additional sensitivity analyses were performed including only participants with complete data (for exposure variables, covariates, and WISC subtest scores, n=216).

Tests were two-sided and conducted at the $\alpha = 0.05$ level. All analyses were performed with SAS software (SAS/STAT version 9.3; SAS Institute Inc., Cary, NC).

3.4. Results

Table 3.1 summarizes the descriptive characteristics of the 231 families included in this study. The mothers' average age at enrolment was 30.3 years. Most had attended university (68.0%) and lived with the child's father (94.2%). At inclusion, 23.4% reported smoking and 13% drinking alcoholic beverages at least once a week at the

beginning of pregnancy. Girls and boys were equally represented in the sample, and 65% of the children had been breastfed.

Of the 231 mothers included in the present study, 68% had attended university compared to 53.9% among the 246 mothers of children who were eligible for the 6-year neuropsychological follow-up but were not included (Supplemental Material, Table S1). Maternal age at birth, smoking during pregnancy, and birth weight were not significantly different between the two groups, but fruit and vegetable consumption during pregnancy was significantly higher among women included in the present analysis (24.2% versus 9.8% reporting consumption ≥ 3 times per day).

Among the 231 participating children, the mean WISC working memory score was 107 (SD=14) and the mean WISC verbal comprehension score was 107 (SD=16) (Table 3.2). Higher maternal education level, maternal WAIS verbal IQ score, and HOME score were all significantly associated with higher WISC scores (Supplemental Material, Table 3.S2). A higher WISC working memory score was observed with elementary school (vs preschool), fruit and vegetable consumption and non-smoking mothers during pregnancy. WISC memory score was also related to the psychologist testing the child. A higher WISC verbal comprehension score was associated with breastfeeding duration, birth weight, fish intake, fruit and vegetable consumption and no disturbance during testing.

As shown in Table 3.3, in the prenatal maternal urine samples, DAP, DM, and DE metabolites were quantified in 91.3%, 89.6%, and 49.8%, respectively. Median urinary concentrations were 43.9 nmol/L for DAP and 34.3 nmol/L for DM. In the children's urine samples, DAP, DM, and DE metabolites were detected in 79.2%, 60.6% and 52.8%, respectively. Median urinary concentrations were 11.3 nmol/L for DAP, 3 nmol/L for DM, and 0.8 nmol/L for DE (Table 3.3). Mothers' OP urinary concentrations were not statistically significantly correlated with those of their

children (in log-scale; DAP: $r_{Pearson}$=0.02, p=0.81; DM: $r_{Pearson}$=-0.04, p=0.66; DE: $_{Pearson}$=0.06, p=0.64).

Final regression models for WISC working memory scores are presented in Table 3.4. After adjustment for the covariates, prenatal DAP, DM and DE urinary levels were not statistically significantly associated with WISC working memory scores measured at age 6.

Simultaneously, no significant associations were observed between DAP or DM measured at 6 years of age and the WISC working memory score. WISC working memory scores were significantly lower in association with the highest category of DE in children's urine samples (–3.6; 95% CI: –7.8, –0.6 for urinary concentrations >11.1 nmol/L versus <LOD).

Estimates from models that included only prenatal and childhood exposures and corresponding creatinine concentrations were generally consistent with estimates from the fully adjusted models, with no consistent evidence of associations between exposures and working memory scores (Supplemental Material, Table 3.S3). The association with high DE concentrations at age 6 was negative but not significant (–2.1; 95% CI: –7.1, 1.9 for urinary concentrations >11.1 nmol/L versus <LOD).

In general, dose-response curves generated from spline models of log-transformed exposures were consistent with estimates from models of the exposures as categorical variables, without clear evidence of strong or consistent associations (Supplemental Material, Figure 3.S1). Statistical tests comparing the spline models to linear models of the log-transformed exposures did not indicate significant departures from linearity for any of the exposures (*p*-values ranging from 0.20–0.97). None of the coefficients for log-scale DAP concentrations in the linear models were statistically significant (for the DE concentration at age 6, β=-0.33; 95% CI: -0.76, 0.10, *p*=0.13; Table 4).

Table 3.5 presents the final regression models for WISC verbal comprehension scores. After adjustment, maternal DAP and DM urinary concentrations were not significantly associated with their children's verbal comprehension scores. The highest maternal urinary concentrations of DE metabolites were associated with a better WISC verbal comprehension score (5.5; 95% CI: 0.8,10.3 for >13.2 nmol/L versus <LOQ).

In the same regression models, no statistically significant associations were observed between the children's urinary concentrations of DAP, DE, or DM and their WISC verbal comprehension score.

Results were similar for the associations that included only prenatal and childhood exposures and corresponding creatinine concentrations (Supplemental Material, Table 3.S4). Spline regression findings were consistent with the results in Table 5 and showed no contribution by the nonlinear components of the associations (Supplemental Material, Figure 3.S2). None of the log-scale DAP concentrations in linear models were statistically significant (for the prenatal DE concentration, β=0.33; 95% CI: -0.12, 0.79, *p*=0.15; Table 3.5).

Additional adjustment for birth weight did not modify the associations between the children's WISC scores and their mothers' or their own urinary concentrations of DAP, DM, or DE (data not shown). When models were restricted to participants with complete data on all covariates, outcomes, and exposures (n = 216) results were generally consistent with findings from the default models for exposures at both time points and associations with working memory and verbal WISC scores (Supplemental Material, Tables 3.S5 and 3.S6, respectively).

3. 5. Discussion

The aim of this study was to assess the potential neurotoxic impact of developmental exposure to OP on cognitive functions in a general population of European children. Neither the mothers' nor children's urinary concentrations of either total DAP metabolites or DM metabolites were associated with the children's WISC-IV scores. While no association was found between prenatal DE urinary concentrations and the WISC working memory score, our results unexpectedly indicated higher WISC verbal comprehension scores at age 6 in association with the highest maternal DE urinary concentrations. The 6-year DE urinary concentrations were associated with lower scores of WISC working memory, but not with the verbal comprehension score.

In the Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas (CHAMACOS) cohort study, the mean concentration of total DAP metabolites measured in maternal urine samples (taken around 13 and 26 weeks of pregnancy), modeled as continuous (log10 scale) or categorical (in quintiles), was related to lower scores in all WISC-IV subdomains at 7 years of age (Bouchard et al., 2011). They observed significantly lower WISC-IV scores once the second quintile of maternal total DAP concentrations (55 nmol/L) (Bouchard et al., 2011), which is close to the median DAP value measured in our population (43.9 nmol/L). Prenatal DM and DE urinary concentrations in our cohort were both approximately half those measured in the CHAMACOS cohort (Supplemental Material, Table 3.S7). However, the association between total DAP urinary concentrations and WISC-IV scores in the CHAMACOS cohort was weaker when based on maternal urine samples collected around 13 weeks of pregnancy (median, range 5-27 weeks), which is more consistent with the time of maternal urine sample collection for the present analysis (<19 weeks of gestation).

In the Mount Sinai Hospital (NY) birth cohort, third-trimester pregnancy DE urinary concentrations were associated with lower WISC-IV perceptual reasoning scores among children aged 6-9 years old (-3.51; 95% CI: -7.31, 0.30 with log10-concentration, n=140) and lower working memory scores among children aged 7-9 years old (-3.48; 95% CI: -7.29, 0.34 with log10-concentration, n=114). Prenatal DM urinary concentrations were significantly associated with lower perceptual reasoning scores in the subgroup of maternal *PON1* Q192R QQ genotype participants (Engel et al., 2011). As in our study, they did not observe significantly lower WISC-IV verbal comprehension scores. We note that the prenatal DM and DE urinary concentrations measured in our cohort are slightly lower than those reported in the Mount Sinai cohort (Supplemental Material, Table S7). We did not assess perceptual reasoning. A third US cohort, which enrolled inner-city mothers from New York, observed significantly poorer scores for WISC-IV working memory and a lower total IQ score at 7 years of age associated with higher umbilical cord concentrations of chlorpyrifos, which degrades into DE metabolites (Rauh et al., 2011).

These three American birth cohorts assessing the association of child cognitive functions and OP developmental exposure were all conducted among ethnic minorities or populations with low socioeconomic status. These populations might have been exposed to other factors that enhance their vulnerability to neurotoxic insults and that are not easily adjusted for in association studies. In comparison, our population was mainly composed of well-educated women, only 6% of whom reported they were single. In 2003, according to a national perinatal survey, 42.6% of the pregnant women in France had at least completed high school, compared to 84.4% in our study population (Blondel et al. 2006). Despite this enrolment bias, this study has confirmed well-established factors related to child neuropsychological outcomes, including enriching and cognitively stimulating environments, as assessed by maternal education level, mothers' IQ, HOME score, or child elementary school (for working memory domain), as well as birth weight, which may be a marker of

individual nutritional and social status (Caldwell and Bradley 1984; Dauncey and Bicknell 1999; Weiss et al. 2006). Moreover enrolment in the PELAGIE birth cohort took place all over Brittany and did not represent one particular vulnerable area. Finally, we cannot rule out the possibility that the stimulating environments and the possible healthier lifestyles in our study population might attenuate the potential neurotoxic insults of OP. Nor, however, can we rule out the possibility that manifestations of OP neurotoxicity may be temporarily masked by compensatory processes in our study population and will become more apparent later in life. Finally, in addition to possible lower exposure levels, another explanation might be potentially distinct exposure pathways or exposure mixtures, as suggested by the higher relative contribution of the DMP metabolite to total DM concentrations in this study, compared to the CHAMACOS cohort (Supplemental Material, Table S7).

In view of what we know about the potential neurodevelopmental toxicity of OP in children, the positive association between prenatal DE urinary concentrations and the WISC verbal comprehension score must be interpreted with caution. Recently Yolton et al., that enrolled around 400 pregnant women from Cincinnati, Ohio area, socioeconomically diverse, and with similar or slightly higher urinary DAP concentrations (at around 16 and 26 weeks of pregnancy) than in our study (Supplemental Material, Table S7), found enhanced attention in 5-week-old infants with higher levels of DE exposure (Yolton et al., 2013). Furthermore they observed less lethargy and a reduction of autonomic stress with higher DE maternal urinary concentrations. Since DAP metabolites are found in food, they suggested that the cognitive benefits of improved socioeconomic status and better nutritional quality may outweigh the potentially detrimental effect of OP developmental exposure.

Our results suggested that DE urinary concentrations measured in 6-year-old children were associated with decreased WISC-IV working memory scores measured at the same age. Given the variability of OP urinary biomarkers, particularly among

children (Attfield et al. 2014), this result must be interpreted with caution and requires replication. To our knowledge, only one US birth cohort has assessed children's cognitive functions in relation to postnatal urinary biomarkers of OP exposure. In the CHAMACOS study, postnatal OP exposure, measured by total DAP metabolites in children's urinary samples, taken at different ages (i.e., 6 months, 1, 2, 3.5, and 5 years of age), was not associated with WISC-IV scores, except for the 1-year-old DAP urinary concentrations, which were related to better verbal comprehension and IQ scores at 7 years of age (Bouchard et al. 2011).

The limitations of our study are mainly related to OP exposure assessment and the possibility bias due to misclassification or error measurement. OP are characterized by a short biological half-life. Once absorbed they are rapidly metabolized and eliminated in hours to days. Spot urine samples therefore represent recent OP exposure rather than chronic cumulative exposure. Furthermore, the observation of large intraindividual day-to-day variations of OP urinary biomarkers suggests that repeated urinary measures enable better characterization of OP exposure, especially among children (Bradman et al., 2013; Griffith et al., 2011). Moreover, because DAP metabolites are found in food (Lu et al., 2008; Zhang, Driver, Li, Ross et Krieger, 2008), measurements of urinary levels of DAPs reflect intake of both the toxic parent OP compound and the metabolite itself, without possible distinction. In this sense, fruit and vegetable consumption were thus considered as potential confounders in the present study. Another limitation is the existing imprecision in laboratory measurements. Despite these limitations, urinary biomarkers remain a simple, noninvasive tool for assessing OP exposure, that work best when background exposure levels are relatively stable over time, and have been associated with neurodevelopmental outcomes in previous studies.. Future studies should also consider PON1 susceptibility when assessing OP developmental neurotoxicity, in view of the polymorphisms known to be involved in OP detoxification. Because our study involved multiple comparisons in the analysis without correction for them, we

cannot exclude the possibility of a chance finding. Finally, simulation studies suggest that the imputation approach we used might induce distortion in variance estimates and thus in conclusions of statistical significance (but with unbiased parameter estimates) when censored values are >30% (Lubin et al. 2004). This might explain the absence of statistical significance in the association between continuous DE concentrations and WISC scores. This study has many strengths, mostly related to its longitudinal design, allowing us to obtain a substantial quantity of information about prenatal life and childhood and thus to adjust for several major confounders in our analysis. It is the first European study of associations between prenatal biomarkers of OP exposure and child neurodevelopment, assessed by standardized cognitive scales.

3.6. Conclusion

Using first-trimester urinary biomarkers of OP exposure and standardized cognitive tests to assess the potential developmental neurotoxicity of OP in the European general population, we did not observe associations between biomarkers of prenatal OP exposures and children's cognitive scores at age 6, except that DE exposure appeared to be associated with better verbal comprehension scores. Compared to the previous longitudinal birth cohort studies, our study population is well-educated and may thus have fewer risk factors and more compensatory stimulation. Potential distinct exposure pathways, exposure levels or mixtures are other possible explanations. Although replication is required, our study suggests that postnatal OP exposure may negatively influence working memory scores.

3.7. References

Agreste Bretagne. 2007. Mémento de la statistique agricole [in French]. Ministère de l'agriculture et de la pêche. Available: http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/R5307C01.pdf [accessed 9 December 2014]

Air Breizh. 2012. Campagne de mesure de pesticides à Mordelles du 7 avril au 20 juillet 2010 [in French]. Available : http://www.airbreizh.asso.fr/uploads/media/Mordelles_Phyto_2010_V1.pdf [Accessed 24 July 2014].

Attfield KR, Hughes MD, Spengler JD, Lu C. 2014. Within- and between-child variation in repeated urinary pesticide metabolite measurements over a 1-year period. Environmental health perspectives 122 (2): 201-206

Barr DB, Wang RY, Needham LL. 2005. Biologic monitoring of exposure to environmental chemicals throughout the life stages: requirements and issues for consideration for the National Children's Study. Environ Health Perspect 113:1083-91

Berton T, Mayhoub F, Chardon K, Duca RC, Lestremau F, Bach V, et al. 2014. Development of an analytical strategy based on LC-MS/MS for the measurement of different classes of pesticides and theirs metabolites in meconium: Application and characterisation of foetal exposure in France. Environmental research 132: 311-320.

Blondel B, Supernant K, du Mazaubrun C, Bréart G, pour la Coordination nationale des Enquêtes Nationales Périnatales. 2006. La santé périnatale en France métropolitaine de 1995 à 2003. Résultats des enquêtes nationales périnatales. J Gyn

Obstet Biol Reprod 35:373-387 [In French; available online at http://www.drees.sante.gouv.fr/enquete-nationale-perinatale-2003,11010.html]

Bouchard MF, Chevrier J, Harley KG, Kogut K, Vedar M, Calderon N, et al. 2011. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. Environmental health perspectives 119:1189-1195.

Bouvier G, Blanchard O, Momas I, Seta N. 2006a. Pesticide exposure of non-occupationally exposed subjects compared to some occupational exposure: A French pilot study. The Science of the total environment 366:74-91.

Bouvier G, Blanchard O, Momas I, Seta N. 2006b. Environmental and biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides: Application to occupationally and non-occupationally exposed adult populations. Journal of exposure science & environmental epidemiology 16:417-426.

Bradman A, Barr DB, Claus Henn BG, Drumheller T, Curry C, Eskenazi B. 2003. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: A validation study. Environmental health perspectives 111:1779-1782.

Bradman A, Kogut K, Eisen EA, Jewell NP, Quiros-Alcala L, Castorina R, et al. 2013. Variability of organophosphorous pesticide metabolite levels in spot and 24-hr urine samples collected from young children during 1 week. Environmental health perspectives 121:118-124.

Caldwell B, Bradley R. 1984. Home Observation for Measurement of the Environment. Little Rock:University of Arkansas.

Castorina R, Bradman A, Fenster L, Barr DB, Bravo R, Vedar MG, et al. 2010. Comparison of current-use pesticide and other toxicant urinary metabolite levels among pregnant women in the CHAMACOS cohort and NHANES. Environmental health perspectives 118:856-863.

Chevrier C, Limon G, Monfort C, Rouget F, Garlantezec R, Petit C, et al. 2011. Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the Pelagie birth cohort. Environmental health perspectives 119:1034-1041.

Costa LG. 2006. Current issues in organophosphate toxicology. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 366:1-13.

Dauncey MJ, Bicknell RJ. 1999. Nutrition and neurodevelopment: mechanisms of developmental dysfunction and disease in later life. Nutr Res Rev 12:231-53.

Desquilbet L, Mariotti F. 2010. Dose-response analyses using restricted cubic spline functions in public health research. Stat Med 29: 1037-57.

Engel SM, Berkowitz GS, Barr DB, Teitelbaum SL, Siskind J, Meisel SJ, et al. 2007. Prenatal organophosphate metabolite and organochlorine levels and performance on the Brazelton neonatal behavioral assessment scale in a multiethnic pregnancy cohort. American journal of epidemiology 165:1397-1404.

Engel SM, Wetmur J, Chen J, Zhu C, Barr DB, Canfield RL, et al. 2011. Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood. Environmental health perspectives 119:1182-1188.

Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Harley K, Barr DB, Johnson C, et al. 2007. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. Environmental health perspectives 115:792-798.

Furlong MA, Engel SM, Barr DB, Wolff MS. 2014. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and reciprocal social behavior in childhood. Environment international 70C:125-131.

Gonzalez-Alzaga B, Lacasana M, Aguilar-Garduno C, Rodriguez-Barranco M, Ballester F, Rebagliato M, et al. 2014. A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. Toxicology letters 230:104-21.

Grandjean P, Harari R, Barr DB, Debes F. 2006. Pesticide exposure and stunting as independent predictors of neurobehavioral deficits in Ecuadorian school children. Pediatrics 117:e546-556.

Griffith W, Curl CL, Fenske RA, Lu CA, Vigoren EM, Faustman EM. 2011. Organophosphate pesticide metabolite levels in pre-school children in an agricultural community: Within- and between-child variability in a longitudinal study. Environmental research 111:751-756.

Handal AJ, Harlow SD, Breilh J, Lozoff B. 2008. Occupational exposure to pesticides during pregnancy and neurobehavioral development of infants and toddlers. Epidemiology 19:851-859.

Harari R, Julvez J, Murata K, Barr D, Bellinger DC, Debes F, et al. 2010. Neurobehavioral deficits and increased blood pressure in school-age children prenatally exposed to pesticides. Environmental health perspectives 118:890-896.

Jin Y, Hein MJ, Deddens JA, Hines CJ. 2011. Analysis of lognormally distributed exposure data with repeated measures and values below the limit of detection using SAS. Ann Occup Hyg 55:97-112

Lu C, Barr DB, Pearson MA, Waller LA. 2008. Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. Environmental health perspectives 116:537-542.

Lubin JH, Colt JS, Camann D, Davis S, Cerhan JR, Severson RK et al. 2004. Epidemiologic evaluation of measurement data in the presence of detection limits. Environ Health Perspect 112:1691-6

Marks AR, Harley K, Bradman A, Kogut K, Barr DB, Johnson C, et al. 2010. Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children: The CHAMACOS study. Environmental health perspectives 118:1768-1774.

Nougadere A, Sirot V, Kadar A, Fastier A, Truchot E, Vergnet C, et al. 2012. Total diet study on pesticide residues in France: Levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers. Environment international 45:135-150.

Petit C, Blangiardo M, Richardson S, Coquet F, Chevrier C, Cordier S. 2012. Association of environmental insecticide exposure and fetal growth with a bayesian model including multiple exposure sources: The Pelagie mother-child cohort. American journal of epidemiology 175:1182-1190.

Rauch SA, Braun JM, Barr DB, Calafat AM, Khoury J, Montesano AM, et al. 2012. Associations of prenatal exposure to organophosphate pesticide metabolites with gestational age and birth weight. Environmental health perspectives 120:1055-1060.

Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB, et al. 2011. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. Environmental health perspectives 119:1196-1201.

Rauh VA, Garfinkel R, Perera FP, Andrews HF, Hoepner L, Barr DB, et al. 2006. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. Pediatrics 118:e1845-1859.

Rice D, Barone S, Jr. 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. Environmental health perspectives 108 Suppl 3:511-533.

Slotkin TA, Tate CA, Ryde IT, Levin ED, Seidler FJ. 2006. Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: Disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. Environmental health perspectives 114:1542-1546.

Wechsler D. 1997. Wechsler Adult Intelligence Scale—Third Edition The Psychological Corporation. San Antonio, TX.

Wechsler D. 2003. Wechsler Intelligence Scale for Children-IV: Administration and Scoring Manual. San Antonio, TX:Harcourt Assessment.

Weiss LG, Harris JG, Prifitera A, Courville T, Rolfhus E, Saklofske DH et al. 2006. WISC-IV interpretation in societal context. In: Weiss LG, Saklofske DH, Prifitera A, Holdnack JA, editors. WISC-IV: Advanced clinical interpretation. Burlington, MA (USA): Academic Press/Elsevier, p 1-58

Weldon RH, Barr DB, Trujillo C, Bradman A, Holland N, Eskenazi B. 2011. A pilot study of pesticides and PCBS in the breast milk of women residing in urban and agricultural communities of California. Journal of environmental monitoring : JEM 13:3136-3144.

Whyatt RM, Rauh V, Barr DB, Camann DE, Andrews HF, Garfinkel R, et al. 2004. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. Environmental health perspectives 112:1125-1132.

Yolton K, Xu Y, Sucharew H, Succop P, Altaye M, Popelar A, et al. 2013. Impact of low-level gestational exposure to organophosphate pesticides on neurobehavior in early infancy: A prospective study. Environmental health 12:79.

Young JG, Eskenazi B, Gladstone EA, Bradman A, Pedersen L, Johnson C, et al. 2005. Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates. Neurotoxicology 26:199-209.

Zhang X, Driver JH, Li Y, Ross JH, Krieger RI. 2008. Dialkylphosphates (DAPS) in fruits and vegetables may confound biomonitoring in organophosphorus insecticide exposure and risk assessment. Journal of agricultural and food chemistry 56:10638-10645.

Table 3.1 Descriptive characteristics of the participants (n=231; PELAGIE cohort, France)

	n[a]	%	Mean ± SD	Range
Characteristics of mothers and families				
At inclusion during pregnancy (<19 WG)				
Mothers' age	231		30.3 ± 4.1	21.9-44
Maternal educational level				
High school or less	74	32.0		
University level	157	68.0		
Smoking (% yes)	231	23.4		
Alcohol use (% yes)[a]	231	13.0		
Fish intake (% ≥ 2 per week)	231	29.4		
Fruit and vegetable consumption (% ≥ 3 per day)	231	24.2		
Urinary creatinine levels (mg/L)	231		1080 ± 509	235-3511
Season of urine collection				
Spring	72	31.2		
Summer	58	25.1		
Autumn	48	20.8		
Winter	53	22.9		
Parity				
0	98	42.4		
≥1	133	57.6		
At the 6-year-old follow-up				
Marital status (% single)[c]	231	5.8		
Mothers' IQ[b]	231		93.4 ± 11.4	60-127
HOME score	231		46.1 ± 4.3	27-46.1
Number of children in the family at the 6-year follow-up	231		2.4 ± 0.7	2-6
Children's characteristics				
Sex (% male)	231	50.6		
Birth weight (g)	231		3401 ± 436	2340-4660
Breastfeeding duration[c]				
No breastfeeding	80	34.6		
≤ 16 weeks	70	30.3		
> 16 weeks	81	35.1		
School at 6 years of age (% elementary)[c]	231	27.7		
Testing characteristics				
Child psychologist (% psychologist 1)	231	50.2		
Disturbance during test (% yes)	231	8.2		

SD: Standard deviation ; WG: weeks' gestation

[a]Drinking an alcoholic beverage at least once a week or more during pregnancy

[b]Measured with the Wechsler Adult Intelligence Scale

[c]Missing values were imputed for breastfeeding duration (n=1, >16 weeks), school (n=1, primary school) and mother's marital status (n=8, married/cohabitating).

Table 3.2 Age-standardized WISC-IV scores of 6-year-old children (n=231; PELAGIE cohort, France)

WISC index and subtest	Mean±SD	p25	p50	p75	Min-Max
Working memory index	107.3 ± 14.1	97	106	118	62-140
Digit span	11.3 ± 2.8	9	12	14	3-19
Letter-number sequencing[a]	11.3 ± 2.4	9	11	13	7-18
Verbal comprehension index	107.0 ± 16.0	98	108	118	72-155
Similarities	11.9 ± 3.3	10	12	14	6-19
Vocabulary[b]	9.7 ± 3.5	8	10	12	1-19
Comprehension[c]	11.9 ± 3.1	10	12	14	3-19

WISC-IV: Wechsler Intelligence Scale for Children-4th edition ; SD : Standard deviation

[a] eight missing values

[b] one missing value

[c] three missing values

Table 3.3 Quantification frequency and median molar concentrations of nonspecific organophosphate metabolites in urine samples among all values (n=231; PELAGIE cohort, France)

Organophosphate metabolites	% ≥ LOQ or LOD[a]	p10	p25	p50	p75	p90
Maternal urine samples						
Dialkylphosphates	91.3	2.3	14.5	43.9	85.6	151.2
Dimethylphosphates	89.6	< LOQ	10.5	34.3	71.9	115.5
Diethylphosphates	49.8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	13.2	36.2
Children's urine samples (at age 6)						
Dialkylphosphates	79.2	< LOD	1.8	11.3	34.1	120.6
Dimethylphosphates	60.6	< LOD	< LOD	3	19.9	65
Diethylphosphates	52.8	< LOD	< LOD	0.8	12.1	28.9

% ≥ LOQ (for maternal urine samples): proportion of urinary samples in the study population with a quantified value for the metabolites of interest, % ≥ LOD (for children's urine samples): proportion of urinary samples in the study population with a detected value for the metabolites of interest

Table 3.4 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores (n=231; PELAGIE cohort, France)

Organophosphate metabolites (nmol/L)	n	β (95% CI)
Pregnancy urinary samples		
DAP[a]		
< 22.2	77	Ref
22.2-68.8	77	-1.5 (-5.9, 2.9)
> 68.8	77	-0.6 (-5.0, 3.9)
Log-concentration	231	-0.55 (-1.44, 0.34)
DM[b]		
< 15.5	77	Ref
15.5-59.9	77	-1.3 (-5.7, 3.1)
> 59.9	77	-0.6 (-5.1, 4.0)
Log-concentration	231	-0.64 (-1.81, 0.53)
DE[c]		
< LOQ	116	Ref
> LOQ -13.2	58	-0.7 (-5.0, 3.6)
> 13.2	57	2.1 (-2.3, 6.4)
Log-concentration	231	0.13 (-0.29, 0.55)
6-year urinary samples		
DAP[a]		
< 3.95	77	Ref
3.95-25	76	-0.6 (-5.0, 3.7)
> 25	78	-2.6 (-6.9, 1.8)
Log-concentration	231	-0.23 (-1.03, 0.57)
DM[b]		
< LOD	91	Ref
> LOD-13	70	-0.5 (-4.8, 3.8)
> 13	70	0.2 (-4.1, 4.5)
Log-concentration	231	0.07 (-0.51, 0.64)
DE[c]		
< LOD	109	Ref
> LOD -11.1	61	-1.5 (-5.7, 2.8)
> 11.1	61	-3.6 (-7.8, -0.6)
Log-concentration	231	-0.33 (-0.76, 0.10)

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children ; DAP : dialkyphosphate ; DM : dimethylphosphate ; DE : diethylphosphate.

Urinary concentrations during pregnancy and during childhood were included simultaneously in the models. Models of natural log-transformed exposure concentrations were run after confirming $p > 0.05$ for departures from linearity.

All models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, parity, and season of urine collection.

[a]DAP models also adjusted for: maternal alcohol use at inclusion, and disturbances during testing.

[b]DM models also adjusted for: maternal alcohol use at inclusion, disturbances during testing, marital status, maternal fruit and vegetable consumption, maternal fish intake, and child's sex.

[c]DE models also adjusted for: marital status, maternal fish intake, and child's sex.

Table 3.5 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores (n=231; PELAGIE cohort, France)

Organophosphate metabolites (nmol/L)	n	β (95% CI)
Pregnancy urinary samples		
DAP[a]		
< 22.2	77	Ref
22.2-68.8	77	3.4 (-1.4, 8.1)
> 68.8	77	3.0 (-1.8, 7.8)
Log-concentration	231	0.32 (-0.63, 1.28)
DM[b]		
< 15.5	77	Ref
15.5-59.9	77	0.4 (-4.5, 5.3)
> 59.9	77	1.1 (-3.9, 6.2)
Log-concentration	231	0.37 (-0.93, 1.66)
DE[c]		
< LOQ	116	Ref
> LOQ -13.2	58	-0.7 (-5.4, 4.0)
> 13.2	57	5.5 (0.8, 10.3)
Log-concentration	231	0.33 (-0.12, 0.79)
6-year urinary samples		
DAP[a]		
< 3.95	77	Ref
3.95-25	76	1.8 (-3.0, 6.5)
> 25	78	-1.3 (-6.1, 3.5)
Log-concentration	231	-0.45 (-1.32, 0.42)
DM[b]		
< LOD	91	Ref
> LOD-13	70	-0.1 (-4.9, 4.6)
> 13	70	-2.6 (-7.3, 2.1)
Log-concentration	231	-0.33 (-0.96, 0.31)
DE[c]		
< LOD	109	Ref
> LOD -11.1	61	-0.4 (-5.1, 4.2)
> 11.1	61	-0.9 (-5.5, 3.7)
Log-concentration	231	-0.03 (-0.51, 0.44)

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children ; DAP : dialkyphosphate ; DM : dimethylphosphate ; DE : diethylphosphate.

Urinary concentrations during pregnancy and during childhood were included simultaneously in the models. Models of natural log-transformed exposure concentrations were run after confirming p >0.05 for departures from linearity. All models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, parity, and season of urine collection.

[a]DAP models also adjusted for: disturbances during testing

[b]DM models also adjusted for: disturbances during testing, parity, season of . urine collection, maternal fruit and vegetable consumption, and child's sex

[c]DE models also adjusted for: maternal fish intake.

Table 3.S1 Descriptive characteristics assessed at inclusion in the cohort of the families participating (n=231) and not participating (n=246) in the 6-year neuropsychological follow-up (PELAGIE cohort, France)

Characteristics	Participants				Non-participants				
	n[a]	%	Mean ± SD	Range	n[b]	%	Mean ± SD	Range	*p*-value[c]
Characteristics of the pregnant women at inclusion (<19 weeks)									
Mothers' age	231		30.3 ± 4.1	21.9-44	246		30 ± 4.8	18-44.4	0.46
Maternal educational level									
High school or less	74	32.0			61	46.1			<0.01
University level	157	68.0			184	53.9			
Smoking (% yes)	231	23.4			243	22.2			0.77
Alcohol use (% yes)[d]	231	13.0			241	14.5			0.63
Fish intake (% ≥ 2 per week)	231	29.4			246	22.8			0.10
Fruit and vegetable intake (% ≥ 3 per day)	231	24.2			246	9.8			<0.01
Urinary creatinine levels (mg/L)	231		1080 ± 509	235-3511	225		1111 ± 458	185-3073	0.49
Season of urine collection									0.66
Spring	72	31.2			75	30.6			
Summer	58	25.1			59	24.1			
Autumn	48	20.8			62	25.3			
Winter	53	22.9			49	20.0			
Parity									
0	98	42.4			100	40.8			0.72
≥1	133	57.6			145	59.2			
Children's characteristics									
Sex (% male)	231	50.6			246	52.4			0.70
Birth weight (g)	231		3401 ± 436	2340-4660	246		3428 ± 446	2110-4760	0.51

SD: Standard deviation; weeks: weeks of gestation

[a] eligible subjects participating in the 6-year neuropsychological follow-up

[b] eligible subjects not participating in this study because they could not be reached (i.e., lost to follow-up, n=104), refused to participate in the neuropsychological follow-up (n=115), the child had already undergone neuropsychological testing (n=15), or no maternal urine sample was available (n=12)

[c] test (t-test for continuous variables, Chi-square test for categorical variables) comparing the participating and non-participating populations.

[d] Drank an alcoholic beverage at least once a week during pregnancy

Table 3.S2 Univariate analyses for studying the association between WISC scores of 6-year-old children and covariates (n=231; PELAGIE cohort, France).

		WISC WMI		WISC VCI	
Characteristics		Mean or Pearson's Rho	*p*	Mean or Pearson's Rho	*p*
Characteristics of mothers and families					
At inclusion during pregnancy (<19 weeks)					
Mothers' age	231	0.08	0.21	0.09	0.18
Maternal educational level					
High school or less	74	103.3	0.003	99.2	<0.001
University level	157	109.2		110.7	
Smoking					
No	177	108.3	0.05	107.9	0.11
Yes	54	104.1		104.0	
Alcohol use[a]					
No	201	107.5	0.53	106.8	0.66
Yes	30	105.8		108.2	
Fish intake					
none or <2 per week	163	106.6	0.25	105.2	0.006
≥ 2 per week	68	109.0		111.5	
Fruit and vegetable intake					
< 3 per day	175	106.3	0.05	105.9	0.05
≥ 3 per day	56	110.5		110.7	
Parity					
0	98	106.7	0.57	107.0	0.97
≥1	133	107.8		107.1	
At the 6-year follow-up					
Marital status					
No	218	107.1	0.32	107.1	0.43
Yes	13	111.1		107.0	
Mothers' IQ[b]	231	0.27	<0.001	0.39	<0.001
HOME score	231	0.17	0.009	0.20	0.002
Number of children in the family at the 6-year follow-up	231	0.05	0.41	0.02	0.78
Children's characteristics					
Sex					
Boy	117	106.2	0.21	107.3	0.80
Girl	114	108.5		106.8	
Birth weight (g)	231	0.09	0.15	0.18	0.006
Breastfeeding duration					
No breastfeeding	80	105.3	0.11	103.1	<0.001
≤ 16 weeks	70	106.8		104.8	
> 16 weeks	81	109.9		112.9	
School at 6 years of age					
Preschool	167	105.4	<0.001	106.9	0.85
Elementary	64	112.4		107.3	
Testing characteristics					
Child psychologist					
Psychologist 1	116	110.3	<0.001	107.5	0.67
Psychologist 2	115	104.2		106.6	
Disturbance during test					
No	212	107.7	0.15	107.8	0.01
Yes	19	102.7		98.1	

Weeks: weeks of gestation

p : *p*-value of the Pearson's correlation test for continuous variables or of the statistical test for the simultaneous nullity of coefficients in an univariate variance analysis

[a]Drank an alcoholic beverage at least once a week during pregnancy

[b]Measured with the Wechsler Adult Intelligence Scale

Table 3.S3 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores (n=231; PELAGIE cohort, France) with minimal adjustment

Organophosphate metabolites (nmol/L)	n	β (95% CI)
Pregnancy urinary samples		
DAP		
< 22.2	77	Ref
22.2-68.8	77	-0.7 (-5.2, 3.9)
> 68.8	77	0 (-4.6, 4.6)
DM		
< 15.5	77	Ref
15.5-59.9	77	-1.6 (-6.1, 3.0)
> 59.9	77	-1.9 (-6.4, 2.7)
DE		
< LOQ	116	Ref
> LOQ -13.2	58	-1.2 (-5.7, 3.3)
> 13.2	57	3.7 (-0.8, 8.2)
6-year urinary samples		
DAP		
< 3.95	77	Ref
3.95-25	76	0.9 (-3.7, 5.5)
> 25	78	-1.2 (-5.8, 3.4)
DM		
< LOD	91	Ref
> LOD-13	70	-1.7 (-6.2, 2.8)
> 13	70	-1.4 (-5.9, 3.1)
DE		
< LOD	109	Ref
> LOD -11.1	61	-1 (-5.4, 3.5)
> 11.1	61	-2.6 (-7.1, 1.9)

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children ; DAP : dialkyphosphate ; DM : dimethylphosphate ; DE : diethylphosphate.
Urinary concentrations during pregnancy and during childhood were included simultaneously in the models. The nonlinear component contribution was not tested in these models. The coefficients from linear models of the log-transformed exposures were thus not reported. All models were adjusted for creatinine levels of mother and child.

Table 3.S4 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores (n=231; PELAGIE cohort, France) with minimal adjustment

Organophosphate metabolites (nmol/L)	n	β (95% CI)
Pregnancy urinary samples		
DAP		
< 22.2	77	Ref
22.2-68.8	77	1.9 (-3.3, 7.0)
> 68.8	77	1.9 (-3.2, 7.1)
DM		
< 15.5	77	Ref
15.5-59.9	77	-1.3 (-6.4, 3.9)
> 59.9	77	-2.1 (-7.2, 3.0)
DE		
< LOQ	116	Ref
> LOQ -13.2	58	-0.6 (-5.7, 4.4)
> 13.2	57	7.1 (2.0, 12.2)
6-year urinary samples		
DAP		
< 3.95	77	Ref
3.95-25	76	2.3 (-2.9, 7.5)
> 25	78	-0.4 (-5.6, 4.7)
DM		
< LOD	91	Ref
> LOD-13	70	-1.4 (-6.5, 3.6)
> 13	70	-3.5 (-8.5, 1.6)
DE		
< LOD	109	Ref
> LOD -11.1	61	-1.2 (-6.2, 3.8)
> 11.1	61	-0.5 (-5.6, 4.5)

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children ; DAP : dialkyphosphate ; DM : dimethylphosphate ; DE : diethylphosphate.
Urinary concentrations during pregnancy and during childhood were included simultaneously in the models. The nonlinear component contribution was not tested in these models. The coefficients from linear models of the log-transformed exposures were thus not reported. All models were adjusted for creatinine levels of mother and child.

Table 3.S5 Associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores among participants with complete data (n=216; PELAGIE cohort, France)

Organophosphate metabolites (nmol/L)	n	β (95% CI)
Pregnancy urinary samples		
DAP[a]		
< 22.2	77	Ref
22.2-68.8	77	-0.8 (-5.3, 3.8)
> 68.8	77	-0.4 (-5.0, 4.2)
DM[b]		
< 15.5	77	Ref
15.5-59.9	77	-0.8 (-5.3, 3.8)
> 59.9	77	0.7 (-5.5, 4.1)
DE[c]		
< LOQ	116	Ref
> LOQ -13.2	58	-1.2 (-5.6, 3.2)
> 13.2	57	1.7 (-2.8, 6.2)
6-year urinary samples		
DAP[a]		
< 3.95	77	Ref
3.95-25	76	-1.1 (-5.7, 3.5)
> 25	78	-3.4 (-7.9, 1.2)
DM[b]		
< LOD	91	Ref
> LOD-13	70	-0.2 (-4.7, 4.3)
> 13	70	-0.2 (-4.7, 4.3)
DE[c]		
< LOD	109	Ref
> LOD -11.1	61	-2.8 (-7.2, 1.6)
> 11.1	61	-4.8 (-9.1, -0.5)

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children ; DAP : dialkyphosphate ; DM : dimethylphosphate ; DE : diethylphosphate.

Urinary concentrations during pregnancy and during childhood were included simultaneously in the models. The nonlinear component contribution was not tested in these models. The coefficients from linear models of the log-transformed exposures were thus not reported. All models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, parity, and season of urine collection.

[a]DAP models also adjusted for: maternal alcohol use at inclusion, and disturbances during testing

[b]DM models also adjusted for: maternal alcohol use at inclusion, disturbances during testing, marital status, maternal fruit and vegetable consumption, maternal fish intake, and child's sex.

[c]DE models also adjusted for: marital status, maternal fish intake, and child's sex.

Table 3.S6 Associations between organophoshate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores among participants with complete data (n=216; PELAGIE cohort, France)

Organophosphate metabolites (nmol/L)	n	β (95% CI)
Pregnancy urinary samples		
DAP[a]		
< 22.2	77	Ref
22.2-68.8	77	4.1 (-0.8, 9.0)
> 68.8	77	2.1 (-2.9, 7.1)
DM[b]		
< 15.5	77	Ref
15.5-59.9	77	0.4 (-4.6, 5.5)
> 59.9	77	0 (-5.2, 5.3)
DE[c]		
< LOQ	116	Ref
> LOQ -13.2	58	-1.4 (-6.3, 3.4)
> 13.2	57	4.9 (-0.1, 9.8)
6-year urinary samples		
DAP[a]		
< 3.95	77	Ref
3.95-25	76	0.7 (-4.3, 5.7)
> 25	78	-2.6 (-7.5, 2.3)
DM[b]		
< LOD	91	Ref
> LOD-13	70	-0.7 (-5.7, 4.2)
> 13	70	-3.5 (-8.4, 1.4)
DE[c]		
< LOD	109	Ref
> LOD -11.1	61	-1.4 (-6.3, 3.5)
> 11.1	61	-2.2 (-7.0, 2.5)

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children ; DAP : dialkyphosphate ; DM : dimethylphosphate ; DE : diethylphosphate.
Urinary concentrations during pregnancy and during childhood were included simultaneously in the models. The nonlinear component contribution was not tested in these models. The coefficients from linear models of the log-transformed exposures were thus not reported. All models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child.
[a]DAP models also adjusted for: disturbances during testing
[b]DM models also adjusted for: disturbances during testing, parity, season of urine collection, maternal fruit and vegetable consumption, and child's sex.
[c]DE models also adjusted for: maternal fish intake.

Table 3.S7 Prenatal urinary organophosphate metabolite concentrations (in nmol/L) across cohorts addressing the potential role of exposure to organophosphate insecticides during pregnancy on neurodevelopment.

OP metabolite	Study	n	% ≥ LOD or LOQ[a]	p25	p50	p75	p90
DAP	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	87.8%	11.4	37.9	87.5	158.5
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**91.3%**	**14.5**	**43.9**	**85.6**	**151.2**
	CHAMACOS cohort[b]	590	88.5%	NA	102.8	277.5	732
	MOUNT SINAI cohort[c]	318	97.3%	31.7	81.3	198.1	NA
	HOME cohort[d]	350	100%	NA	63	NA	NA
DM	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	86.4%	9.0	30.6	72.3	131.5
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**89.6%**	**10.5**	**34.3**	**71.9**	**115.5**
	CHAMACOS cohort	590	80.2%	NA	74.2	232.7	648
	MOUNT SINAI cohort	318	96.4%	16.0	44.8	149.4	NA
	HOME cohort	350	100%	NA	40	NA	NA
DE	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	48.8%	<LOQ	<LOQ	10.5	32.8
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**49.8%**	**<LOQ**	**<LOQ**	**13.2**	**36.2**
	CHAMACOS cohort	590	74.3%	NA	14.1	32.2	70.9
	MOUNT SINAI cohort	318	87.8%	7.8	20.2	54.6	NA
	HOME cohort	350	93%	NA	9	NA	NA
DMP	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	80.3%	4.3	19.6	55.7	97.2
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**83.5%**	**5.3**	**22.0**	**59.8**	**91.1**
	CHAMACOS cohort	590	50.3%	NA	6.7	37.3	105
DMTP	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	27.7%	<LOQ	<LOQ	8.3	36.4
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**26.4%**	**<LOQ**	**<LOQ**	**6.8**	**26.4**
	CHAMACOS cohort	590	65.6%	NA	28.9	119.7	331
DMDTP	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	20.3%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	11.3
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**20.8%**	**<LOQ**	**<LOQ**	**<LOQ**	**9.1**
	CHAMACOS cohort	590	48.6%	NA	<LOD	25.9	137
DEP	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	18.4%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	20.5
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**19.0%**	**<LOQ**	**<LOQ**	**<LOQ**	**20.0**
	CHAMACOS cohort	590	60.4%	NA	5.3	16.9	46.2
DETP	PELAGIE cohort (eligible for the 6-year follow-up)	477	5.9%	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**6.9%**	**<LOQ**	**<LOQ**	**<LOQ**	**<LOQ**
	CHAMACOS cohort	590	49.1%	NA	<LOD	7.6	24.1
DEDTP	PELAGIE cohort (eligible to the 6-year-old follow-up)	477	35.0%	<LOQ	<LOQ	0.4	5.9
	PELAGIE cohort (participants)	**231**	**35.1%**	**<LOQ**	**<LOQ**	**0.5**	**7.9**
	CHAMACOS cohort	590	45.6%	NA	<LOD	2	4.8

NA: not available

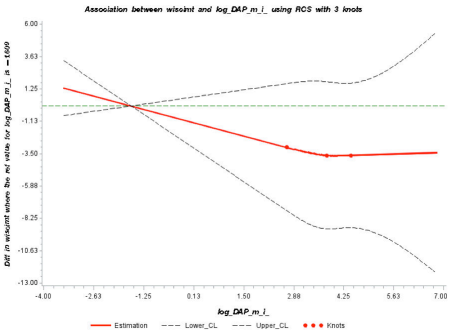
[a] CHAMACOS, MOUNT SINAI and HOME cohorts used LOD; PELAGIE cohort used LOQ

[b] CHAMACOS cohort (Bradman et al. 2005; the table reports the urinary DAP concentrations measured in the prenatal sample no.1 collected at the beginning of pregnancy, as in the PELAGIE cohort)

[c] MOUNT SINAI cohort is the Mount Sinai Children's Environmental Health Study (Engel et al. 2011)

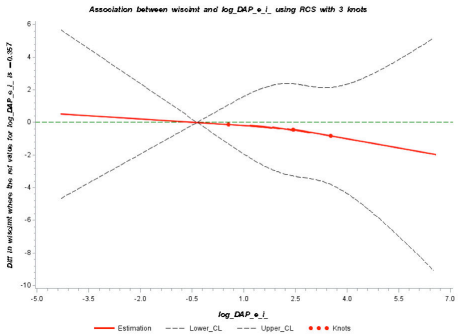
[d] HOME cohort study (Yolton et al. 2011; Average of the measurements of two urine samples collected at 16 weeks of gestation and 26 weeks of gestation)

Pregnancy urinary samples



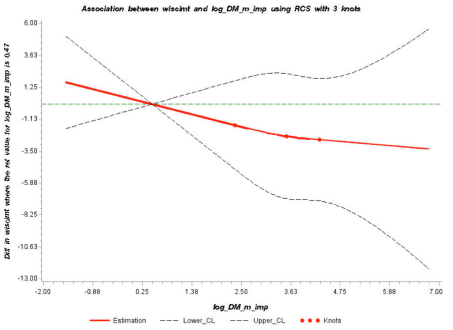
p-value overall association=0.40, non linear component=0.65

6-year urinary samples

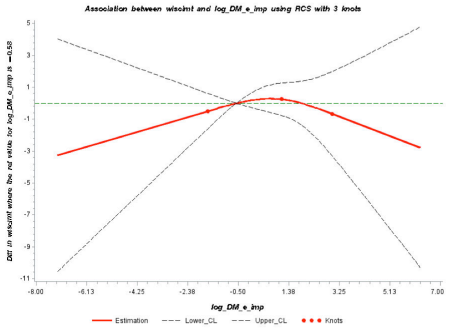


p-value overall association=0.84, non linear component=0.86

Models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, parity, season of urine collection, maternal alcohol use at inclusion, and disturbances during testing

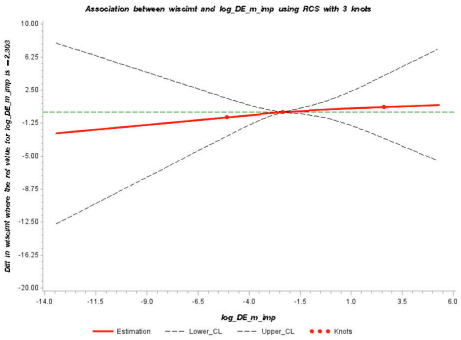


p-value overall association=0.43, non linear component=0.66

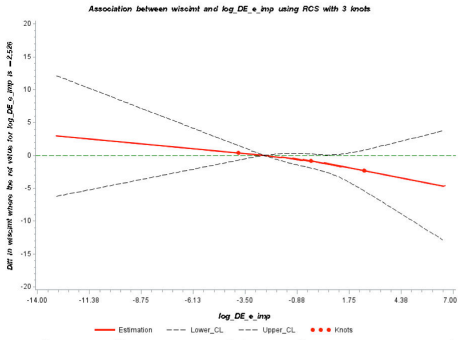


p-value overall association=0.70, non linear component=0.42

Models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, parity, season of urine collection, maternal alcohol use at inclusion, disturbances during testing, marital status, maternal fruit and vegetable consumption, maternal fish intake, and child's sex.



p-value overall association=0.80, non linear component=0.82

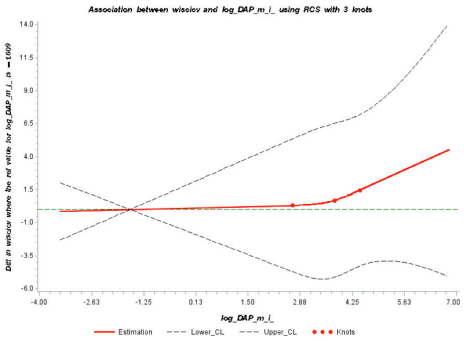


p-value overall association=0.27, non linear component=0.97

Models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, parity, season of urine collection, marital status, maternal fish intake, and child's sex.

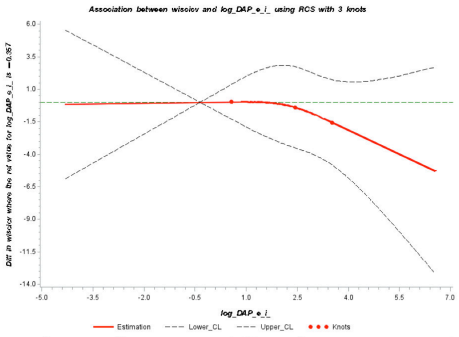
Figure 3.S1 Spline regressions for studying the associations between organophosphate urinary metabolites and WISC working memory scores (n=231; PELAGIE cohort, France)

Pregnancy urinary samples



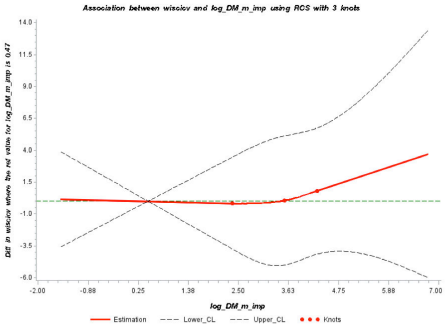
p-value overall association=0.65, non linear component=0.52

6-year urinary samples

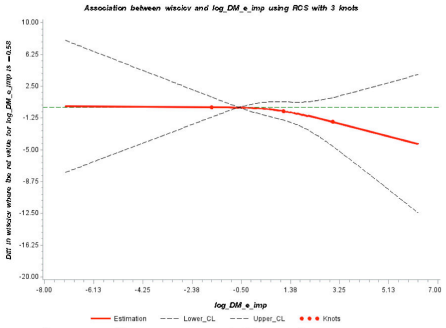


p-value overall association=0.43, non linear component=0.42

Models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, and disturbances during testing

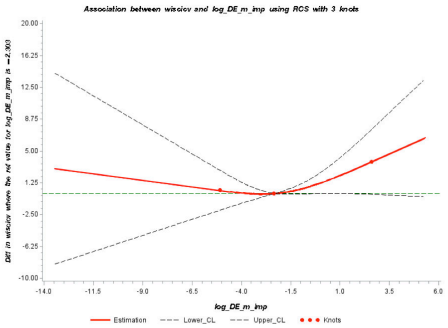


p-value overall association=0.75, non linear component=0.58

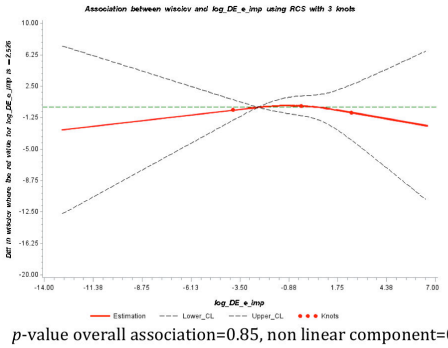


p-value overall association=0.49, non linear component=0.56

Models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, and disturbances during testing, parity, season of urine collection, maternal fruit and vegetable consumption, and child's sex.



p-value overall association=0.14, non linear component=0.20



p-value overall association=0.85, non linear component=0.57

Models were adjusted for HOME score, breastfeeding duration, mothers' IQ, school, maternal education level, psychologist testing the child, creatinine levels of mother and child, and maternal fish intake.

Figure 3.S2 Spline regressions for studying the associations between organophosphate urinary metabolites and WISC verbal comprehension scores (n=231 ; PELAGIE cohort, France)

CHAPITRE IV

ARTICLE 3 – CHILDREN CONTRAST SENSITIVITY FUNCTION IN RELATION TO ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDE PRENATAL EXPOSURE IN THE MOTHER-CHILD PELAGIE COHORT

Children Contrast Sensitivity Function in Relation to Organophosphate Insecticide Prenatal Exposure in the Mother-Child PELAGIE Cohort

Chloé Cartier,[1,2] Charline Warembourg,[1] Christine Monfort,[1] Florence Rouget,[1,3] Gwendolina Limon,[4] Gaël Durand,[4] Sylvaine Cordier,[1] Dave Saint-Amour,[2,5] and Cécile Chevrier[1]

[1]INSERM U1085-IRSET, Université Rennes I, Rennes, France

[2]Département de psychologie, Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, Canada

[3]"Bien Naître en Ille et Vilaine" network, Rennes, France

[4]LABOCEA Laboratoire, Plouzané, France

[5]Centre de recherche et département d'ophtalmologie, CHU Sainte-Justine, Montréal, (Québec), Canada

Corresponding author: Cécile Chevrier, INSERM U1085 - IRSET, Avenue du Prof. Léon Bernard, 35000 RENNES, phone: (+33) 223236126, email : cecile.chevrier@inserm.fr

Acknowledgments: We are grateful to the gynecologists, obstetricians, ultrasonographers, midwives, pediatricians, psychologists, and families who participated in the study. We particularly thank Véronique Villalon, Catherine Nouyrigat and Jo Ann Cahn for their help and Mathilde Mordelet and Olivia Martin for the neuropsychological and visual testing. GL and GD are employed by

LABOCEA Company, Plouzane, France. This study received funding from the French National Research Agency (ANR-2010-PRSP-007) and the Fondation de France (FdF).

Conflict of interest statement: The authors declare that they have no conflict of interest.

4.1. Abstract

Human exposure to organophosphate pesticides (OP) is widespread. Several studies suggest that OP prenatal exposure alters the development of cognitive and behavioural functions in children, but the effects of OP prenatal exposure on child sensory function are largely unknown. The aim of the study was to evaluate the association between prenatal OP exposure and visual processing in school-aged children from the mother-child PELAGIE cohort (France). OP biomarkers of exposure were measured in maternal urine samples at the beginning of pregnancy. The Functional Acuity Contrast Test (FACT) was used to assess visual contrast sensitivity in 180 children at 6 years of age. Linear regression models were performed among all children, and separately for boys and girls, taking into account various confounders including maternal education and breastfeeding. No associations were observed in the whole sample, while maternal OP urinary levels were associated with a decrease in boys FACT scores. These findings indicate that OP prenatal exposure might impair visual processing later in life in boys only.

4.2. Introduction

Organophosphate pesticides (OP) are among the most widely used insecticides worldwide. These chemicals are registered for conventional agriculture crops, residential pest control and veterinary purposes. Human biomonitoring studies have demonstrated widespread human contamination (Bradman et al., 2003; Bradman et al., 2013). Indeed OP residues have been found on children and adult hands (Bouvier et al., 2006a, 2006b), in urine from different populations, in meconium and amniotic fluid (Bradman et al., 2003; Whyatt et Barr, 2001; Whyatt et al., 2005). Population exposure to OP has been suggested to occur mainly via dietary intake of non-organic contaminated products (Abb et al., 2010; Lu et al., 2008) but domestic use of insecticides and proximity to spraying agricultural areas were also found as potential exposure sources (Whyatt et al., 2005). Breastfeeding and repeated hand-to-mouth behaviours are two other pathways of OP exposure in infants and children (Bedi et al., 2013; Weldon et al., 2011).

OP were synthetized purposely to eliminate insects through acetylcholine toxicity (Costa, 2006). They inhibit acetyl cholinesterase action that results in an increase in acetylcholine levels at synaptic sites. OP can also disrupt serotoninergic and dopaminergic pathways, as well as neuronal replication, differentiation and apoptosis during developmental processes (Costa, 2006; Slotkin, Tate, et al., 2006). OP acute poisoning consequences are well identified but the impact of chronic low dose exposure, as observed in the general population, is still under investigation. Because the brain is more vulnerable to neurotoxic insult during development (Grandjean et Landrigan, 2006; Rice et Barone, 2000), foetus, newborns and children are potentially more vulnerable to OP developmental neurotoxicity, and prenatal exposure may constitute a window of higher susceptibility.

OP prenatal exposure has been associated with adverse neurodevelopmental outcomes by several longitudinal birth cohort studies using biomarkers of exposure and standardized cognitive assessments (Gonzalez-Alzaga et al., 2013), but not all (Cartier et al., 2016; Donauer et al., 2016). Adverse associations were observed between prenatal OP exposure and newborns motor functions (Engel et al., 2007; Young et al., 2005), children mental and psychomotor development (Engel et al., 2011; Eskenazi et al., 2007; Llop et al., 2013; Rauh et al., 2006), pervasive developmental disorder (Eskenazi et al., 2010), symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder (Marks et al., 2010) and intellectual functions (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011).

While sensory functions are crucial for cognitive development, few studies on OP developmental neurotoxicity have yet investigated the potential role of OP prenatal exposure on the integrity of sensory function in children. Moreover sensory assessments could potentially reveal brain functional abnormalities that are not detectable with standard cognitive evaluations. In Ecuador prenatal occupational OP exposure was associated with lower visual acuity in school-aged children and lower visuospatial abilities (Grandjean et al., 2006; Handal et al., 2008; Harari et al., 2010). In China slower auditory processes were recorded in 9-months children in relation to prenatal pesticides exposure measured in umbilical cord (Sturza et al., 2016). In the present study, we examined associations between prenatal OP exposure and 6 year-old children visual function using prenatal measurements of urinary OP metabolites in the French mother-child cohort PELAGIE.

4.3. Materiel and methods

4.3.1. Population and study area

The PELAGIE cohort was initiated to evaluate the potential impact of prenatal exposure to environmental chemicals on pregnancy outcomes and child development. Three thousand four hundred twenty one pregnant women from Brittany were recruited before 19 weeks of gestation between May 2002 and February 2006 (Chevrier et al., 2011; Petit et al., 2012; Petit et al., 2010). Questionnaires at inclusion were administered to document social, demographic, occupational, and medical family characteristics, dietary habits (fish, fruit and vegetable consumption), and lifestyle. A subcohort of 601 women (18% of the total cohort) was randomly selected from the cohort members who gave birth to a live-born singleton (Chevrier et al., 2011) for urinary assays. At 6 years of age children were invited to participate in a neuropsychological follow-up organized at their home, which included an evaluation of their visual function. The exclusion criteria were the following: Birth before 35 weeks of gestation, adverse findings at delivery (e.g., hypoglycemia, 5-minute Apgar score <7), neonatal hospitalization or resuscitation, genetic anomalies, and maternal or child death. Maternal urinary samples and children vision evaluation were available for 186 of the 243 children who participated to this 6-year-old follow-up study (visual testing material available for 81% of the home visit). Among them 5 children were excluded: 4 children did not wear their glasses at the testing time and one child had nystagmus. All subjects gave informed consent before participating in this study. The appropriate French ethics committees approved all study procedures, including the informed consent forms.

4.3.2. Measurements of OP exposure

At enrollment a first morning void maternal urine sample was collected at home into 10-mL vials containing nitric acid to prevent bacterial multiplication. Pregnant women returned the urine sample to the research laboratory by local mail in a self-

addressed stamped package. At reception, samples were frozen at − 20 °C until shipment to the analysis laboratory. Children at age 6 were asked to provide the first-morning void urine sample of the day of the home visit, which was retrieved by the psychologist during the home visit. First morning void urine samples were chosen as the most concentrated urine samples.

One urine sample of mothers and one urine sample of children were analyzed for six nonspecific dialkylphosphate (DAP) metabolites of numerous OP insecticides (DAP; diethylphosphate (DEP), diethylthiophosphate (DETP), diethyldithiophosphate (DEDTP), dimethylphosphate (DMP), dimethylthiophosphate (DMTP) and dimethyldithiophosphate (DMDTP)). The LABOCEA Institute performed the chemical analyses (Plouzané, France). The maternal samples were analyzed by liquid chromatography (Alliance Waters, Separations Module 2690), with a Synergi Fusion RP C18 column, (250 × 2 mm, 4 μm) and triple quadrupole mass spectrometry (LC/MSMS), followed by solid phase extraction (Symbiosis Prospekt II type, Hysphere C18 HD cartridge). Detection relied on LC/MSMS (Quattro Ultima, Micromass/Waters). Two internal standards were used for extraction and detection controls: deuterated diuron 6 and Di-n-butylphosphate, provided by Riedel-de-Hae□n Fine Chemicals and Dr. Ehrenstorfer GmBH. The children's 1-mL samples were analyzed by solid phase extraction and liquid chromatography (Waters Acquity UPLC), with a Waters BEH C18 column (150 × 2.1 mm, 1.7 μm) and triple quadrupole mass spectrometry (UPLC/MSMS) detection after online solid phase extraction (Waters 2777C and Waters Oasis HLB Direct Connect cartridges). UPLC/MSMS was used for detection (Xévo TQ-S, Waters). Reference standards were di-ethylthiophosphate D10 and dimethylthiophosphate D6 (provided by Sigma-Aldrich and Dr. Ehrenstorfer GmBH). Additional details were provided in the available supplemental data in Cartier et al. (2016).

The limits of quantification (LOQ) for the chemical analyses of maternal urine samples were 1.25, 1.7, 0.02, 0.2, 1, and 0.45 µg/L for, respectively, DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP, and DMDTP. For the children's samples, values between the limit of detection (LOD) and the LOQ were available. The LODs were 0.2, 0.1, 0.005, 0.06, 0.32, and 0.13 µg/L for, respectively, DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP, and DMDTP. No imputations were made for censored values (i.e., <LOQ for maternal urine samples or <LOD for children's samples). Metabolite concentrations in micrograms per liter were converted to their molar concentrations (nanomoles per liter). DEP, DETP, and DEDTP concentrations were summed to obtain overall concentrations of diethylphosphate metabolites (DE). DMP, DMTP, and DMDTP were summed to obtain dimethylphosphate metabolites (DM). DAP were the sum of all six metabolites (sum of DE and DM). The urinary concentrations were then grouped into three exposure categories: 1. censored values, 2. uncensored values ≤ median, 3. uncensored values > median for DE (<66.7% of uncensored values), and in tertiles with equivalent n in each tertile for DAP and DM (>66.7% of uncensored values).

4.3.3. Functional Acuity Contrast Test

The Functional acuity contrast test (FACT®) was used to assess the children's visual function. Assessments were conducted at home in a uniformly illuminated room by one of two trained psychologists, blinded to the child's prenatal and current OP exposure. The FACT is a chart with five rows from A to E. Each row consists of nine circular areas with vertical gratings. Each row has a specific spatial frequency from 1.5 cycles per degree (cpd) in Row A to 18 cpd in Row E. The grating contrast decreases by 0.15 log units from left to right (9 contrast levels). For each stimulus, the child was asked to indicate the grating orientation (left, up or right). For each row, the child score was the last correct answer given, leading to 5 scores per children (one

for each spatial frequency). The test was presented monocularly at a distance of 45 cm. The child was instructed to use glasses during the test if normally worn.

4.3.4. Potential covariates

A maternal interview was also conducted at home with the Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS-III) to document the mother's verbal intellectual quotient (IQ). The Home Observation for Measurement of the Environment questionnaire (HOME) (Caldwell and Bradley 1984) was used to assess the family environment.

Different variables were documented with questionnaires at enrollment and at the 6 years neuropsychological follow up: 1) maternal and family characteristics, i.e. mother's age, education (university level or lower), and verbal IQ, HOME score, tobacco (yes or no) and alcohol (yes or no) use during pregnancy, fish consumption during pregnancy (≥ 2 per week or less), and urinary creatinine levels; 2) child's characteristics, i.e. gestational age, parity (0 or ≥1), breastfeeding (yes or no), duration of video gaming (0, 0–1.5, ≥ 1.5 h per week), duration of television watching (<2.5, 2.5–4.5, >4.5 h per week), extra-curricular sport activities (no, yes), sleep duration (10.5, 10.5–11, >11 h per day) and 3) protocol characteristics, i.e. the child's interviewer, and ambient light intensity (in lux) during the visual test (continuous).

4.3.5. Statistical analysis

We used linear regression models to assess the relation between maternal urinary concentrations of OP metabolites and children FACT scores (row A-lowest spatial frequency to row E-highest spatial frequency). The DAP, DM, and DE metabolites were considered in three separate independent models. All variables associated with

both prenatal OP metabolite urinary concentrations and FACT scores at $p \leq 0.2$ were considered as potential confounding factors and included in the final regression model (i.e. maternal education level, child's sex, breastfeeding, duration of television watching). The variables highly associated ($p \leq 0.05$) with FACT scores only were also included in the final regression models (i.e. total HOME score, ambient light, extra-curricular sport activities, child's interviewer). To account for the potential role of OP current exposure on FACT scores, the children's OP metabolite urinary concentrations were entered in final regression models. Analyses were conducted for all children, and then for girls and boys separately. All analyses were performed with SPSS software (version 20).

4.4. Results

Descriptive characteristics of the participants are presented in Table 4.1. Girls and boys were equally represented in the sample (48.9% and 51.1%, respectively). Most of mothers (67.7%) were highly educated (university level), and 23.3% reported to smoke at the beginning of pregnancy. Occasional alcohol drinking (at least once a week) was reported by 12.8% of the pregnant women. Finally, 65% of children were breastfed, but less than 6 weeks for most of them.

Urinary concentrations of DAP metabolites are presented in Table 4.2. DAP, DM, and DE metabolites were quantified in 91.7%, 90%, and 49.4% of the prenatal maternal urinary samples, respectively. Among quantified values median urinary concentrations were 47.9 nmol/L for DAP, 39.45 nmol/L for DM, and 13.3 nmol/L for DE. DAP, DM, and DE metabolites were detected in 81.1%, 63.9% and 53.9% of the children's urinary samples, respectively. Median urinary concentrations among detected values were 21 nmol/L for DAP, 15.2 nmol/L for DM, and 10.8 nmol/L for DE.

Associations between maternal OP urinary levels assessed during pregnancy and children 6-years FACT scores are presented in Table 4.3. No statistically significant association was observed between prenatal total DAP, DE or DM urinary levels and FACT scores among all children. When considering boys only, prenatal urinary DE concentrations were associated with a decrease in FACT scores for both moderate and high spatial frequencies, at 6 cpd (<LOQ=ref; β(LOQ-13.3nmol/L)=-0.63, 95% CI: -1.64; 0.38; β(>13.3nmol/L)=-1.38, 95% CI: -2.48; -0.29) and at 12 cpd (<LOQ=ref; β(LOQ-13.3nmol/L)=0.06, 95% CI: -0.91; 1.03; β(>13.3nmol/L)=-1.44, 95% CI: -2.48; -0.39). Association was also suggested between prenatal urinary concentrations of DAP and FACT scores for the high spatial frequency 12 cpd (<27.7nmol/L=ref; β(27.7-74.3nmol/L)=-1.04, 95% CI: -2.05; -0.03; β(>74.3nmol/L)=-0.44, 95% CI: -1.45; 0.57).

Among girls, almost all estimates were positive and displayed no monotonous dose-response relationship. Statistically significant estimates were observed between intermediate prenatal urinary concentrations of DAP and FACT scores for the moderate 6 cpd (β=0.88, 95% CI: 0.03; 1.74) to high 12 cpd spatial frequencies (β=0.88, 95% CI: 0.03; 1.72), and between intermediate prenatal urinary concentrations of DM and FACT scores for the moderate spatial frequencies 6 cpd (β=0.93, 95% CI: 0.16; 1.69) and high spatial frequency 12 cpd (β=1.11, 95% CI: 0.18; 2.04).

No significant association was found between OP urinary concentrations measured at 6 year old (DAP, DE, DM) and FACT scores, except for girls with associations between DM urinary concentrations and better FACT scores for the moderate spatial frequency 6 cpd (<19.3nmol/L=ref; β(19.3-61.3nmol/L)=0.66, 95% CI: -0.07; 1.38; β(>61.3nmol/L)=0.86, 95% CI: 0.85; 1.64) and for the highest spatial frequency 18

cpd (<19.3nmol/L=ref; β(19.3-61.3nmol/L)=1.09, 95% CI: 0.12; 2.05; β(>61.3nmol/L)=1.08, 95% CI: 0.05; 2.11) (see supplement material, Table 4.S1).

4.5. Discussion

To our knowledge the present study is the first to assess the relation between OP prenatal exposure and visual function in school-aged children using urinary biomarkers of exposure and standardized visual tests in the general population. After controlling for confounding factors no association was observed between maternal DAP, DM or DE urinary levels and children FACT scores. In boys, prenatal DE levels were significantly associated with a decrease in contrast sensitivity scores in moderate and high spatial frequencies, while better contrast sensitivity scores in moderate and high spatial frequencies were observed among girls in association with prenatal DM urinary concentrations with a non-monotonous relation.

Only three studies, all conducted in Ecuador in floriculture area, have assessed the relation between prenatal exposure to pesticides and child visual function (Grandjean et al., 2006; Handal et al., 2008; Harari et al., 2010). In these cross-sectional studies prenatal occupational OP exposure to pesticides during pregnancy was evaluated through maternal self-reported questionnaires and children cognitive and sensory functions were evaluated with standardized tests. They found deficits in visual acuity and visuo-spatial performances among children from 9 months to 8 years of age whose mothers were occupationally exposed to pesticides during their pregnancy, compared to children whose mothers were not. The authors reported that in these local greenhouses, OP insecticides are the most widely used pesticides, suggesting that OP prenatal exposure might play an adverse role in the children visual function integrity similarly to the present findings.

Differential effects depending on sex have been previously observed in studies investigating children neurodevelopment in relation to OP exposure. In a rural California longitudinal birth cohort prenatal OP exposure was associated with children behavioural problems with stronger association among boys (Marks et al., 2010). Similarly memory deficit were observed only in boys in association to OP prenatal exposure in another North America longitudinal cohort from New York with no apparent deficit in girls (Horton, Kahn, Perera, Barr et Rauh, 2012). Genetic and hormonal factors are likely to play a role in such sex difference in OP developmental neurotoxicity.

Interestedly the reduced scores of contrast sensitivity in relation to OP prenatal exposure in boys were only observed for medium-to-high (6-12 cpd) spatial frequency gratings. In the FACT test, abnormal scores in the highest frequency grating are generally considered to result from refractive errors whereas abnormal scores in medium or low frequency are more related to general neurological problems. It is therefore plausible to hypothesise that in boys the prenatal OP exposure might induce more developmental alterations at the brain instead retinal level (Waksman et Brody, 2007). In girls, however, we observed better performances of contrast sensitivity for medium-to-high (6-12 cpd) spatial frequency gratings in association with intermediate levels of prenatal DM urinary concentrations. We have no explanation for these results, although we cannot exclude the possibility of remaining confounding factors or chance findings.

Our results show the interest for assessing functional integrity of sensory processing when evaluating chemical neurodevelopmental toxicity. Because visual processing precedes cognitive and behavioural response processing, it is possible that neuropsychological performance decrements observed by previous studies in children in relation to developmental OP exposure is not fully explained by alterations of

cognitive processes occurring in high-level brain areas, but may also result, at least in part, from OP sensory alterations. In Faroese children analysis adjustment on FACT score enabled to determine that neuropsychological dysfunction caused by mercury exposure was not mediate by adverse effect of this toxicant on the visual pathway (Grandjean et al., 2001). Moreover, evaluating sensory processes could also reveal subtle brain functional changes that are not necessary detectable with cognitive evaluations.

Our main study limitation is related to OP exposure assessment. Indeed OP are characterized by a short biological half-life and are rapidly metabolized and excreted in urine (Needham, 2005). A single urine sample is more likely to represent recent OP exposure rather than chronic cumulative exposure. In this study repeated urinary measures could have enable better characterization of OP exposure, especially among children (Bradman et al., 2013; Griffith et al., 2011). Moreover, the existence of preformed DAP residues found in food reduces the specificity of our exposure assessment, which makes impossible to distinguish between exposure to the active parent compound from exposure to the inactive metabolite itself in urinary DAP concentrations (Lu et al., 2008; Zhang et al., 2008). Indeed measure of DAP residues in fruits and vegetables found more preformed OP metabolites than parent compound in the majority of the sample tested (Zhang et al., 2008). Despite these limitations, urinary biomarker is a simple, noninvasive tool for assessing prenatal OP exposure, and the efficacy of this method in detecting OP developmental neurotoxicity has been previously shown (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011). Our results are also limited by the modest sample size when considering statistical analysis by children sex and we cannot exclude chance findings.

For the first time in Europe we were able to investigate associations between prenatal biomarkers of OP exposure and children visual function. We used a standardized visual test, simple to use, that could easily be reused in other cohorts when assessing

environmental contaminants effects on children brain integrity. Because of the longitudinal design of our study, substantial quantity of sociodemographic and lifestyle information were documented among families from inclusion to the children's sixth birthdays, which allowed to control for several confounders.

4.6. References

Abb, M., Breuer, J. V., Zeitz, C. et Lorenz, W. (2010). Analysis of pesticides and PCBs in waste wood and house dust. *Chemosphere, 81*(4), 488-493. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.07.042

Bedi, J. S., Gill, J. P., Aulakh, R. S., Kaur, P., Sharma, A. et Pooni, P. A. (2013). Pesticide residues in human breast milk: risk assessment for infants from Punjab, India. *Sci Total Environ, 463-464*, 720-726. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.066

Bouchard, M. F., Chevrier, J., Harley, K. G., Kogut, K., Vedar, M., Calderon, N., Eskenazi, B. (2011). Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. *Environ Health Perspect, 119*(8), 1189-1195. doi: 10.1289/ehp.1003185

Bouvier, G., Blanchard, O., Momas, I. et Seta, N. (2006a). Environmental and biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides: application to occupationally and non-occupationally exposed adult populations. *J Expo Sci Environ Epidemiol, 16*(5), 417-426. doi: 10.1038/sj.jes.7500473

Bouvier, G., Blanchard, O., Momas, I. et Seta, N. (2006b). Pesticide exposure of non-occupationally exposed subjects compared to some occupational exposure: a French pilot study. *Sci Total Environ, 366*(1), 74-91. doi: 10.1016/j.scitotenv.2005.08.016

Bradman, A., Barr, D. B., Claus Henn, B. G., Drumheller, T., Curry, C. et Eskenazi, B. (2003). Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect, 111*(14), 1779-1782.

Bradman, A., Kogut, K., Eisen, E. A., Jewell, N. P., Quiros-Alcala, L., Castorina, R., Eskenazi, B. (2013). Variability of organophosphorous pesticide metabolite levels in spot and 24-hr urine samples collected from young children during 1 week. *Environ Health Perspect, 121*(1), 118-124. doi: 10.1289/ehp.1104808

Cartier, C., Warembourg, C., Le Maner-Idrissi, G., Lacroix, A., Rouget, F., Monfort, C., Chevrier, C. (2016). Organophosphate Insecticide Metabolites in Prenatal and Childhood Urine Samples and Intelligence Scores at 6 Years of Age: Results from the Mother-Child PELAGIE Cohort (France). *Environ Health Perspect, 124*(5), 674-680. doi: 10.1289/ehp.1409472

Chevrier, C., Limon, G., Monfort, C., Rouget, F., Garlantezec, R., Petit, C., Cordier, S. (2011). Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect, 119*(7), 1034-1041. doi: 10.1289/ehp.1002775

Costa, L. G. (2006). Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta, 366*(1-2), 1-13. doi: 10.1016/j.cca.2005.10.008

Donauer, S., Altaye, M., Xu, Y., Sucharew, H., Succop, P., Calafat, A. M., Yolton, K. (2016). An Observational Study to Evaluate Associations Between Low-Level Gestational Exposure to Organophosphate Pesticides and Cognition During Early Childhood. *Am J Epidemiol, 184*(5), 410-418. doi: 10.1093/aje/kwv447

Ellemberg, D., Lewis, T. L., Liu, C. H. et Maurer, D. (1999). Development of spatial and temporal vision during childhood. *Vision Res, 39*(14), 2325-2333.

Engel, S. M., Berkowitz, G. S., Barr, D. B., Teitelbaum, S. L., Siskind, J., Meisel, S. J., Wolff, M. S. (2007). Prenatal organophosphate metabolite and organochlorine

levels and performance on the Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scale in a multiethnic pregnancy cohort. *Am J Epidemiol, 165*(12), 1397-1404. doi: 10.1093/aje/kwm029

Engel, S. M., Wetmur, J., Chen, J., Zhu, C., Barr, D. B., Canfield, R. L. et Wolff, M. S. (2011). Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood. *Environ Health Perspect, 119*(8), 1182-1188. doi: 10.1289/ehp.1003183

Eskenazi, B., Huen, K., Marks, A., Harley, K. G., Bradman, A., Barr, D. B. et Holland, N. (2010). PON1 and neurodevelopment in children from the CHAMACOS study exposed to organophosphate pesticides in utero. *Environ Health Perspect, 118*(12), 1775-1781. doi: 10.1289/ehp.1002234

Eskenazi, B., Marks, A. R., Bradman, A., Harley, K., Barr, D. B., Johnson, C., Jewell, N. P. (2007). Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect, 115*(5), 792-798. doi: 10.1289/ehp.9828

Gonzalez-Alzaga, B., Lacasana, M., Aguilar-Garduno, C., Rodriguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M. et Hernandez, A. F. (2013). A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicol Lett*. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.11.019

Grandjean, P., Harari, R., Barr, D. B. et Debes, F. (2006). Pesticide exposure and stunting as independent predictors of neurobehavioral deficits in Ecuadorian school children. *Pediatrics, 117*(3), e546-556. doi: 10.1542/peds.2005-1781

Grandjean, P. et Landrigan, P. J. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet, 368*(9553), 2167-2178. doi: S0140-6736(06)69665-7 [pii]10.1016/S0140-6736(06)69665-7

Grandjean, P., White, R. F., Sullivan, K., Debes, F., Murata, K., Otto, D. A. et Weihe, P. (2001). Impact of contrast sensitivity performance on visually presented neurobehavioral tests in mercury-exposed children. *Neurotoxicol Teratol, 23*(2), 141-146.

Griffith, W., Curl, C. L., Fenske, R. A., Lu, C. A., Vigoren, E. M. et Faustman, E. M. (2011). Organophosphate pesticide metabolite levels in pre-school children in an agricultural community: within- and between-child variability in a longitudinal study. *Environ Res, 111*(6), 751-756. doi: 10.1016/j.envres.2011.05.008

Handal, A. J., Harlow, S. D., Breilh, J. et Lozoff, B. (2008). Occupational exposure to pesticides during pregnancy and neurobehavioral development of infants and toddlers. *Epidemiology, 19*(6), 851-859. doi: 10.1097/EDE.0b013e318187cc5d

Harari, R., Julvez, J., Murata, K., Barr, D., Bellinger, D. C., Debes, F. et Grandjean, P. (2010). Neurobehavioral deficits and increased blood pressure in school-age children prenatally exposed to pesticides. *Environ Health Perspect, 118*(6), 890-896. doi: 10.1289/ehp.0901582

Horton, M. K., Kahn, L. G., Perera, F., Barr, D. B. et Rauh, V. (2012). Does the home environment and the sex of the child modify the adverse effects of prenatal exposure to chlorpyrifos on child working memory? *Neurotoxicol Teratol, 34*(5), 534-541. doi: 10.1016/j.ntt.2012.07.004

Leat, S. J., Yadav, N. K. et Irving, E. L. (2009). Development of visual acuity and contrast sensitivity in children. *Journal of Optometry, 2*, 19-26.

Llop, S., Julvez, J., Fernandez-Somoano, A., Santa Marina, L., Vizcaino, E., Iniguez, C., Ballester, F. (2013). Prenatal and postnatal insecticide use and infant neuropsychological development in a multicenter birth cohort study. *Environ Int, 59*, 175-182. doi: 10.1016/j.envint.2013.06.010

Lu, C., Barr, D. B., Pearson, M. A. et Waller, L. A. (2008). Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environ Health Perspect, 116*(4), 537-542. doi: 10.1289/ehp.10912

Marks, A. R., Harley, K., Bradman, A., Kogut, K., Barr, D. B., Johnson, C., Eskenazi, B. (2010). Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children: the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect, 118*(12), 1768-1774. doi: 10.1289/ehp.1002056

Needham, L. L. (2005). Assessing exposure to organophosphorus pesticides by biomonitoring in epidemiologic studies of birth outcomes. *Environ Health Perspect, 113*(4), 494-498.

Petit, C., Blangiardo, M., Richardson, S., Coquet, F., Chevrier, C. et Cordier, S. (2012). Association of environmental insecticide exposure and fetal growth with a Bayesian model including multiple exposure sources: the PELAGIE mother-child cohort. *Am J Epidemiol, 175*(11), 1182-1190. doi: 10.1093/aje/kwr422

Petit, C., Chevrier, C., Durand, G., Monfort, C., Rouget, F., Garlantezec, R. et Cordier, S. (2010). Impact on fetal growth of prenatal exposure to pesticides due to

agricultural activities: a prospective cohort study in Brittany, France. *Environ Health, 9*, 71. doi: 10.1186/1476-069X-9-71

Rauh, V., Arunajadai, S., Horton, M., Perera, F., Hoepner, L., Barr, D. B. et Whyatt, R. (2011). Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environ Health Perspect, 119*(8), 1196-1201. doi: 10.1289/ehp.1003160

Rauh, V. A., Garfinkel, R., Perera, F. P., Andrews, H. F., Hoepner, L., Barr, D. B., Whyatt, R. W. (2006). Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics, 118*(6), e1845-1859. doi: 10.1542/peds.2006-0338

Rice, D. et Barone, S., Jr. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect, 108 Suppl 3*, 511-533.

Slotkin, T. A., Tate, C. A., Ryde, I. T., Levin, E. D. et Seidler, F. J. (2006). Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. *Environ Health Perspect, 114*(10), 1542-1546.

Sturza, J., Silver, M. K., Xu, L., Li, M., Mai, X., Xia, Y., Meeker, J. (2016). Prenatal exposure to multiple pesticides is associated with auditory brainstem response at 9months in a cohort study of Chinese infants. *Environ Int, 92-93*, 478-485. doi: 10.1016/j.envint.2016.04.035

Waksman, J. C. et Brody, A. (2007). Contrast sensitivity in occupational and environmental neurotoxicology: what does it really mean? *Arch Environ Occup Health, 62*(4), 177-181. doi: 10.3200/AEOH.62.4.177-181

Weldon, R. H., Barr, D. B., Trujillo, C., Bradman, A., Holland, N. et Eskenazi, B. (2011). A pilot study of pesticides and PCBs in the breast milk of women residing in urban and agricultural communities of California. *J Environ Monit, 13*(11), 3136-3144. doi: 10.1039/c1em10469a

Whyatt, R. M. et Barr, D. B. (2001). Measurement of organophosphate metabolites in postpartum meconium as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect, 109*(4), 417-420.

Whyatt, R. M., Camann, D., Perera, F. P., Rauh, V. A., Tang, D., Kinney, P. L., Barr, D. B. (2005). Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth. *Toxicol Appl Pharmacol, 206*(2), 246-254. doi: 10.1016/j.taap.2004.11.027

Young, J. G., Eskenazi, B., Gladstone, E. A., Bradman, A., Pedersen, L., Johnson, C., Holland, N. T. (2005). Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates. *Neurotoxicology, 26*(2), 199-209. doi: 10.1016/j.neuro.2004.10.004

Zhang, X., Driver, J. H., Li, Y., Ross, J. H. et Krieger, R. I. (2008). Dialkylphosphates (DAPs) in fruits and vegetables may confound biomonitoring in organophosphorus insecticide exposure and risk assessment. *J Agric Food Chem, 56*(22), 10638-10645. doi: 10.1021/jf8018084

Table 4.1 Descriptive characteristics of the participants

	All subjects (n=180)			
	N	%	Mean (SD)	Range
Characteristics of mothers and families				
Mothers' age at study inclusion	180		30.3 (4.2)	21.9-44
Maternal educational level				
High school or less	62	34.4		
University level	118	65.6		
Smoking at inclusion (% yes)	180	23.3		
Alcohol comsumption at inclusion (% yes)[1]	180	12.8		
Fish intake (% ≥ 2 per week)	180	28.9		
Creatinine levels	180		1079.7 (523.9)	235-3511
Mothers' IQ[2]	180		93 (11.1)	60-127
HOME score	180		46 (4.2)	27-56
Children's characteristics				
Gestational age (weeks)	180		39.5 (1.2)	36-41
Sex (% male)	180	51.1		
Parity				
0	77	42.4		
≥1	103	57.6		
Breastfeeding (%yes)	180	65		
Testing characteristics				
Ambient light	180		67.7 (117.8)	2-788
Child psychologist (% psychologist 1)	180	49.4		

[1]Almost once a week
[2]Measured with the Wechsler Adult Intelligence Scale
SD: Standard deviation

Table 4.2 Quantification frequency and median molar concentrations of nonspecific organophosphate metabolites in urine samples (n=180)

	Quantification frequency		Among quantified values (nmol/L)						
	n	% ≥ LOQ*	Mean (SD)	Range	p10	p25	p50	p75	p90
Maternal urine samples									
Dialkylphosphates	165	91.67	77.68 (117.19)	2.23-790.11	8.96	19.26	47.98	86.65	141.61
Dimethylphosphates	162	90	66.88 (114.74)	1.88-790.11	7.24	12.84	39.45	74.30	117.73
Diethylphosphates	89	49.44	22.25 (30.33)	0.11-201.31	0.36	2.26	13.34	31.51	50.57
	Detection frequency		Among detected values (nmol/L)						
	n	% ≥ LOD*	Mean (SD)	Range	p10	p25	p50	p75	p90
Children's urine samples (at age 6)									
Dialkylphosphates	146	81.11	55.53 (106.23)	0.71-706.49	2.5	5.95	21.04	51.77	126.80
Dimethylphosphates	115	63.88	47.02 (96.11)	0.71-550.31	2.14	4.11	15.23	43.73	121.92
Diethylphosphates	97	53.88	28.24 (77.85)	0.10-706.49	1.43	3.44	10.84	21.95	61.4

n: number of urinary samples with a quantified value of the metabolites of interest; % ≥ LOQ: proportion of urinary samples in the study population with a quantified value for the metabolites of interest, % ≥ LOD: proportion of urinary samples in the study population with a detected value for the metabolites of interest, SD: Standard deviation

*LOQ were 1.25, 1.7, 0.02, 0.2, 1, and 0.45 μg/L for DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP and DMDTP, respectively; LOD were 0.2, 0.1, 0.005, 0.06, 0.32, and 0.13 μg/L for DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP and DMDTP, respectively

Table 4.3 Descriptive characteristics of FACT scores

	All children (N=180)		Among Girls (n=88)		Among Boys (n=92)		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	p value
Row A	6.3	1.3	6.37	1.25	6.25	1.31	0.51
Row B	6.5	1.5	6.34	1.54	6.58	1.56	0.31
Row C	5.7	1.7	5.6	1.57	5.76	1.86	0.54
Row D	4	1.8	3.98	1.77	4.03	1.83	0.84
Row E	2.5	2.2	2.16	1.99	2.84	2.33	0.04

SD Standard Deviation

Table 4.4 Associations between OP prenatal urinary metabolites and FACT scores

			Among all children (n=180)	Among boys (n=92)	Among girls (n=88)
		nmol/L	β (95% CI)	β (95% CI)	β (95% CI)
DAP	1.5 cpd	< 27.7	Ref	Ref	Ref
		27.7-74.35	0.46 (-0.4, 0.95)	0.24 (-0.48, 0.96)	0.67 (-0.03, 1.34)
		> 74.35	0.14 (-0.35, 0.63)	-0.43 (-1.15, 0.29)	0.57 (-0.16, 1.3)
	3 cpd	< 27.7	Ref	Ref	Ref
		27.7-74.35	0.36 (-0.24, 0.95)	-1.13 (-1, 0.73)	0.88 (0.03, 1.74)
		> 74.35	0.37 (-0.22, 0.96)	0.28 (-0.58, 1.14)	0.53 (-0.36, 1.42)
	6 cpd	< 27.7	Ref	Ref	Ref
		27.7-74.35	0.34 (-0.32, 1)	-0.23 (-1.3, 0.84)	0.88 (0.03, 1.72)
		> 74.35	0.39 (-0.26, 1)	0.26 (-0.81, 1.32)	0.43 (-0.45, 1.3)
	12 cpd	< 27.7	Ref	Ref	Ref
		27.7-74.35	-0.21 (-0.9, 0.49)	-1.04 (-2.05, -0.03)	0.62 (-0.4, 1.64)
		> 74.35	-0.08 (-0.77, 0.61)	-0.44 (-1.45, 0.57)	0.25 (-0.81, 1.3)
	18 cpd	< 27.7	Ref	Ref	Ref
		27.7-74.35	-0.11 (-0.93, 0.7)	-0.29 (-1.52, 0.94)	0.17 (-0.95, 1.3)
		> 74.35	0.24 (-0.56, 1.05)	0.47 (-0.76, 1.7)	0.17 (-0.98, 1.33)
DM	1.5 cpd	< 19.3	Ref	Ref	Ref
		19.3-61.31	0.32 (-0.15, 0.8)	0.2 (-0.48, 0.89)	0.53 (-0.14, 1.19)
		> 61.31	0.06 (-0.42, 0.54)	-0.52 (-1.23, 0.2)	0.55 (-0.13, 1.22)
	3 cpd	< 19.3	Ref	Ref	Ref
		19.3-61.31	0.4 (-0.16, 0.97)	0.13 (-0.69, 0.94)	0.76 (-0.05, 1.58)
		> 61.31	0.39 (-0.19, 0.96)	0.3 (-0.55, 1.16)	0.46 (-0.36, 1.29)
	6 cpd	< 19.3	Ref	Ref	Ref
		19.3-61.31	0.45 (-0.17, 1.07)	0.06 (-0.96, 1.07)	0.93 (0.16, 1.69)
		> 61.31	0.39 (-0.24, 1.02)	0.41 (-0.65, 1.47)	0.18 (-0.6, 0.96)
	12 cpd	< 19.3	Ref	Ref	Ref
		19.3-61.31	0.38 (-0.29, 1.04)	-0.34 (-1.32, 0.65)	1.11 (0.18, 2.04)
		> 61.31	0.22 (-0.46, 0.89)	-0.14 (-1.16, 0.89)	0.29 (-0.65, 1.24)
	18 cpd	< 19.3	Ref	Ref	Ref
		19.3-61.31	0.21 (-0.55, 0.96)	-0.46 (-1.63, 0.72)	0.89 (-0.13, 1.9)
		> 61.31	0.12 (-0.66, 0.89)	0.08 (-1.14, 1.31)	0.14 (-0.89, 1.16)
DE	1.5 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-13.3	-0.23 (-0.71, 0.24)	-0.42 (-1.14, 0.3)	-0.08 (-0.75, 0.59)
		> 13.3	0.4 (-0.08, 0.89)	0.1 (-0.69, 0.88)	0.38 (-0.3, 1.07)
	3 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-13.3	-0.17 (-0.75, 0.41)	-0.38 (-1.23, 0.46)	0.01 (-0.81, 0.82)
		> 13.3	-0.2 (-0.79, 0.39)	-0.48 (-1.39, 0.43)	-0.12 (-0.96, 0.71)
	6 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-13.3	-0.11 (-0.75, 0.52)	-0.63 (-1.64, 0.38)	0.18 (-0.61, 0.98)
		> 13.3	-0.17 (-0.81, 0.48)	-1.38 (-2.48, -0.29)*	0.67 (-0.15, 1.48)
	12 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-13.3	0.31 (-0.35, 0.98)	0.06 (-0.91, 1.03)	0.29 (-0.66, 1.24)
		> 13.3	-0.44 (-1.12, 0.24)	-1.44 (-2.48, -0.39)*	0.28 (-0.7, 1.25)
	18 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-13.3	0.31 (-0.48, 1.1)	0.17 (-1.07, 1.41)	0.35 (-0.69, 1.39)
		> 13.3	0.16 (-0.65, 0.96)	-0.24 (-1.58, 1.1)	0.76 (-0.3, 1.83)

All models were adjusted on 6-years OP urinary corresponding metabolites, maternal education level, child's sex, breastfeeding, duration of TV watching, total HOME score, ambient light, extra-curricular sport activities, child's interviewer.

Table 4.S1 Associations between 6-years urinary metabolites and FACT scores

			Among all children (n=180)	Among boys (n=92)	Among girls (n=88)
		nmol/L	β (95% CI)	β (95% CI)	β (95% CI)
DAP	1.5 cpd	< 9.23	Ref	Ref	Ref
		9.23-33.67	0.04 (-0.45, 0.53)	0.39 (-0.38, 1.16)	-0.24 (-0.91, 0.43)
		> 33.67	0.27 (-0.21, 0.74)	0.39 (-0.27, 1.04)	-0.16 (-0.91, 0.59)
	3 cpd	< 9.23	Ref	Ref	Ref
		9.23-33.67	-0.08 (-0.67, 0.51)	0.05 (-0.87, 0.96)	-0.23 (-1.04, 0.59)
		> 33.67	0.24 (-0.33, 0.81)	0.2 (-0.58, 0.98)	0.22 (-0.7, 1.14)
	6 cpd	< 9.23	Ref	Ref	Ref
		9.23-33.67	-0.06 (-0.71, 0.59)	-0.19 (-1.33, 0.95)	0.08 (-0.72, 0.88)
		> 33.67	0.28 (-0.35, 0.91)	0.08 (-0.89, 1.05)	0.53 (-0.37, 1.43)
	12 cpd	< 9.23	Ref	Ref	Ref
		9.23-33.67	-0.27 (-0.96, 0.43)	-0.28 (-1.35, 0.79)	-0.31 (-1.28, 0.65)
		> 33.67	0.02 (-0.65, 0.69)	-0.05 (-0.97, 0.86)	0.35 (-0.74, 1.43)
	18 cpd	< 9.23	Ref	Ref	Ref
		9.23-33.67	0.12 (-0.69, 0.93)	0.75 (-0.56, 2.05)	-0.66 (-1.71, 0.41)
		> 33.67	0.31 (-0.47, 1.09)	0.54 (-0.57, 1.66)	0.28 (-0.92, 1.47)
DM	1.5 cpd	< 5.24	Ref	Ref	Ref
		5.24-29.75	0.37 (-0.1, 0.83)	0.28 (-0.44, 1.01)	0.3 (-0.34, 0.93)
		> 29.75	0.19 (-0.28, 0.65)	0.28 (-0.39, 0.95)	-0.13 (-0.81, 0.54)
	3 cpd	< 5.24	Ref	Ref	Ref
		5.24-29.75	0.2 (-0.76, 0.36)	-0.3 (-1.17, 0.56)	-0.23 (-1, 0.55)
		> 29.75	-0.05 (-0.6, 0.51)	0.16 (-0.64, 0.96)	-0.47 (-1.3, 0.35)
	6 cpd	< 5.24	Ref	Ref	Ref
		5.24-29.75	0.42 (-0.19, 1.03)	0.3 (-0.78, 1.38)	0.66 (-0.07, 1.38)
		> 29.75	0.55 (-0.06, 1.16)	0.36 (-0.64, 1.35)	0.86 (0.85, 1.64)*
	12 cpd	< 5.24	Ref	Ref	Ref
		5.24-29.75	0.25 (-0.41, 0.9)	0.15 (-0.89, 1.2)	0.44 (-0.45, 1.32)
		> 29.75	0.29 (-0.36, 0.94)	-0.01 (-0.97, 1.2)	0.77 (-0.17, 1.72)
	18 cpd	< 5.24	Ref	Ref	Ref
		5.24-29.75	0.91 (0.16, 1.66)	0.91 (-0.34, 2.15)	1.09 (0.12, 2.05)
		> 29.75	0.63 (-0.12, 1.38)	0.34 (-0.81, 1.48)	1.08 (0.05, 2.11)*
DE	1.5 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-10.84	0.06 (-0.4, 0.53)	0.35 (-0.34, 1.05)	-0.13 (-0.81, 0.55)
		> 10.84	0.29 (-0.17, 0.75)	0.39 (-0.31, 1.09)	0.18 (-0.5, 0.86)
	3 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-10.84	0.1 (-0.47, 0.66)	0.28 (-0.53, 1.09)	0 (-0.84, 0.83)
		> 10.84	0.15 (-0.41, 0.71)	-0.43 (-1.24, 0.38)	0.61 (-0.22, 1.44)
	6 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-10.84	-0.18 (-0.8, 0.45)	0.23 (-0.74, 1.2)	-0.43 (-1.24, 0.38)
		> 10.84	-0.18 (-0.8, 0.44)	-0.57 (-1.55, 0.4)	0.1 (-0.71, 0.9)
	12 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-10.84	-0.19 (-0.84, 0.47)	0.37 (-0.56, 1.29)	-0.58 (-1.55, 0.39)
		> 10.84	-0.08 (-0.73, 0.57)	-0.35 (-1.28, 0.59)	0.25 (-0.72, 1.21)
	18 cpd	< LOQ	Ref	Ref	Ref
		LOQ-10.84	-0.03 (-0.8, 0.74)	0.45 (-0.74, 1.64)	-0.75 (-1.81, 0.31)
		> 10.84	-0.02 (-0.75, 0.79)	0.32 (-0.87, 1.52)	-0.24 (-1.3, 0.81)

All models were adjusted on prenatal OP exposure, maternal education level, child's sex, breastfeeding, duration of TV watching, total HOME score, ambient light, extra-curricular sport activities, child's interviewer.

CHAPITRE V
DISCUSSION

5.1. Résumé des résultats principaux

Cette thèse portait sur l'étude de l'impact de l'exposition prénatale aux insecticides organochlorés et organophosphorés sur le développement cognitif et sensoriel d'enfants d'âge scolaire. Trois questions de recherche ont été formulées :

-L'exposition prénatale au DDT et au DDE est-elle associée aux fonctions visuelles des enfants Inuit ?

-L'exposition prénatale à des niveaux résiduels d'OP est-elle associée aux fonctions cognitives des enfants issus de la population générale en France ?

- L'exposition prénatale à des niveaux résiduels d'OP est-elle associée aux fonctions visuelles des enfants issus de la population générale en France ?

Ces questions de recherche ont été explorées à travers le suivi d'enfants de deux cohortes, une cohorte d'enfants Inuit de 11 ans du Nunavik, et une cohorte d'enfants de 6 ans issus de la population générale française. La technique électrophysiologique des PEV, la passation du test neuropsychologique standardisé du WISC IV et l'administration du test d'évaluation de la sensibilité au contraste FACT ont été utilisées pour mesurer les fonctions cognitives et visuelles de ces enfants dont les scores ont ensuite été mis en relation avec l'exposition périnatale aux pesticides d'intérêt.

5.1.1. Synthèse de l'article 1

L'objectif du premier article était d'évaluer si l'exposition prénatale au DDT et à son métabolite principal, le DDE, pouvait être associée à des altérations des fonctions

visuelles d'enfants Inuit du Nunavik âgés de 11 ans. Les DDT et le DDE ont été mesurés au niveau du cordon ombilical, ainsi que dans le sang des enfants à 5 et 11 ans. Un protocole classique de PEV a été administré à 11 ans. Des analyses de régression multiple ont permis de mettre en évidence une augmentation de l'amplitude de la N150 au contraste le plus faible en lien avec l'exposition prénatale au DDE. Les niveaux sanguins de DDE mesurés à 5 ans, et qui représentent l'exposition cumulative depuis la vie prénatale jusqu'à cet âge, se sont également avérés être associés à une diminution de l'amplitude de la N75. Ces résultats suggèrent que l'exposition au DDE durant les phases de plus grande vulnérabilité que constituent la période prénatale et les premières années de l'enfance pourrait être associée à une altération du développement des fonctions visuelles des enfants.

5.1.2. Synthèse de l'article 2

Le second objectif du présent travail était d'évaluer si l'exposition prénatale à des niveaux communs d'OP pouvait être associée aux fonctions cognitives d'enfants d'âge scolaire issus de la population générale française. Deux cent trente enfants issus de la cohorte PELAGIE ont été sélectionnés pour cette étude. Les métabolites des OP ont été mesurés dans les urines des mamans durant la grossesse. Les fonctions cognitives des enfants ont été évaluées à 6 ans à l'aide du WISC. Nos résultats montrent une augmentation des scores de compréhension verbale des enfants en lien avec l'augmentation des concentrations urinaires d'OP pendant la grossesse. Ces données ne reproduisent pas les résultats des études de cohorte nord-américaine menées auprès de populations défavorisées, mais sont en accord avec les résultats observés dans une cohorte dont le niveau socioéconomique est plus favorable et davantage comparable à celui de notre population d'étude. Nos résultats suggèrent que les enfants issus de familles plus aisées pourraient être exposés à des facteurs protecteurs contre la neurotoxicité développementale des OP et que les effets de cette

neurotoxicité pourraient être compensés ou masqués, temporairement ou non, par davantage de stimulations sociales et familiales. Ce travail a, de plus, permis d'observer de plus faibles performances de mémoire de travail en lien avec les niveaux d'OP mesurés dans les urines des enfants le jour de l'évaluation neuropsychologique.

5.1.3. Synthèse de l'article 3

Le dernier travail de recherche de cette thèse portait sur l'évaluation de l'impact de l'exposition commune aux OP sur l'intégrité des fonctions visuelles des enfants issus de population générale française. Cette étude incluait 180 enfants issus de la cohorte PELAGIE. La sensibilité aux contrastes a été mesurée à 6 ans avec le test du FACT. Les analyses de régression multiple ont permis de mettre en évidence de plus faibles performances visuelles en lien avec l'exposition prénatale aux OP, chez les garçons. Ces données suggèrent que l'exposition prénatale aux OP pourrait perturber le développement des fonctions visuelles des enfants, et plus particulièrement celui des garçons. Des analyses exploratoires montrent aussi de meilleurs scores au FACT chez les filles en relation avec les niveaux urinaires d'OP mesurés le jour de la passation du test.

5.2. Discussion générale

5.2.1. OC et fonctions visuelles

A notre connaissance aucune étude ne s'était auparavant intéressée au lien entre l'exposition prénatale au DDT et au DDE et les fonctions visuelles d'enfants d'âge scolaire. L'originalité de notre étude tient donc dans le fait qu'elle constitue la première étude de cohorte longitudinale ayant permis de montrer que l'intégrité des

fonctions visuelles des enfants peut être négativement influencée par l'exposition périnatale au DDT et au DDE. Plus précisément la fenêtre de temps s'étendant de la période prénatale à l'âge de 5 ans semble constituer une période de plus grande vulnérabilité du système visuel à l'exposition à ces molécules. Cela illustre bien la plus grande fragilité du cerveau en développement face aux molécules neurotoxiques car cette période correspond chez l'humain à une période critique pour la mise en place et la maturation du système visuel (Lewis et Maurer, 2005).

Les Inuit sont de par leur lieu et mode de vie exposés à de fortes concentrations d'OC (Muckle et al., 2001) qui sont supérieures aux concentrations moyennes retrouvées dans la population générale. Les associations DDE et fonctions visuelles observées dans cette étude sont donc difficilement généralisables à la population en Amérique du Nord et en Europe. Cependant rien qu'aux Etats-Unis les données de biosurveillance indiquent que 25% de la population environ est exposée à des concentrations similaires à celles mesurées au Nunavik (CDC, 2009). Des concentrations identiques ou supérieures ont également pu être mesurées dans d'autres populations (Adetona et al., 2013; Patayova et al., 2013; Qu et al., 2010; Tan et al., 2009; Valvi et al., 2012). Différentes populations semblent donc être exposées à des concentrations d'OC suffisantes pour altérer le développement des fonctions visuelles des enfants.

Bien qu'il soit difficile de traduire l'impact clinique de telles modifications des PEV des enfants, il est possible que les déficits cognitifs préalablement rapportés dans la littérature scientifique en lien avec l'exposition périnatale aux OC puissent s'expliquer, du moins en partie, par des altérations des processus visuels en amont ; le traitement sensoriel de l'information précédant son traitement cognitif. Un défaut de fonctionnement des voies et aires visuelles, même subtil et sous clinique, peut avoir des conséquences importantes quant aux capacités de l'enfant à interagir avec son environnement, ses capacités d'apprentissage futures ainsi que sur le développement

de l'ensemble de ses fonctions neuropsychologiques. Ces altérations pourront potentiellement avoir des conséquences importantes sur les performances intellectuelles non verbales de l'enfant et donc à plus long terme sur ses performances scolaires, sociales ou professionnelles.

Dans notre étude les niveaux de DDE mesurés dans le cordon à la naissance se sont révélés être associés à une augmentation de l'amplitude de la N150 et non une diminution de l'amplitude de cette composante. Ce résultat peut paraître surprenant dans la mesure où les observations consécutives à l'exposition à des susbstances chimiques sont habituellement des diminutions d'amplitude des PEV et non l'inverse. Il a par exemple été prélablement montré chez les enfants Inuit du Nunavik que l'exposition aux PCB pendant le développment pouvait être associée à une diminution de l'amplitude des PEV (Saint-Amour et al., 2006). Une diminution de l'amplitude des PEV a également été observée en lien avec l'exposition prénatale au mercure dans cette meme population (Ethier et al., 2012; Saint-Amour et al., 2006) Les PEV résultent de la sommation des potentiels post synaptiques excitateurs et inhibiteurs synchrones générés par un grand nombre de neurones en réponse à une stimulation visuelle. De nombreux réseaux excitateurs et inhibiteurs sont donc recrutés pour générer un tel signal. Nous ne pouvons pas exclure la possibilité que l'augmentation d'amplitude observée dans notre étude en lien avec le DDE soit due à une action de ce pesticide sur les processus ou réseaux inhibiteurs. L'augmentation d'amplitude de la N150 pourrait également traduire un état d'hyperexcitabilité central provoqué par le DDE. Comme il a été expliqué précédemment le DDT et le DDE prolongent la dépolarisation des cellules par leur action sur la conductance membranaire et inhibent l'activité des récepteurs GABA (Vale et al., 2003).

L'enregistrement des PEV est une méthode qui présente de nombreux avantages dans l'étude de la neurotoxicité développementale de substances chimiques. Cette méthode peut tout d'abord être utilisée auprès de jeunes enfants puisqu'elle ne nécessite pas de

participation du sujet autre que la fixation de la stimulation visuelle. Elle peut donc permettre de repérer des atteintes neurotoxiques tôt au cours de la vie, ce qui n'est pas négligeable puisque cela peut aboutir à la mise en place rapide d'interventions de réadaptation ou de mesures compensatoires. Cette méthode est également simple à administrer, peu couteuse, facilement transportable et non invasive. Elle présente ensuite l'avantage de donner une mesure directe de l'intégrité de l'activité cérébrale des enfants avec une très bonne résolution temporelle et peut donc constituer un excellent marqueur précoce de neurotoxicité développementale. En effet cette méthode permet d'enregistrer un phénomène physiologique (i.e. le transport de l'information visuelle le long des voies visuelles puis le traitement de cette information par le cortex visuel) et ne nécessite pas de traitement volontaire de l'information visuelle par le sujet, ni la mise en place d'une réponse comportementale ou verbale. Cette méthode peut donc permettre de mettre en évidence des altérations du développement cérébral subtiles, physiologiques, sous cliniques, qui ne seraient pas détectables avec les tests cognitifs ou comportementaux habituellement employés qui mesurent des processus cognitifs plus élaborés. Cette méthode parait parfaitement appropriée pour l'évaluation des atteintes neurotoxiques induites par l'exposition périnatale à des substances chimiques auprès de populations pédiatriques.

5.2.2. OP et fonctions cognitives

Nos résultats obtenus auprès d'un groupe d'enfants de la population française, avec la cohorte PELAGIE, ne permettent pas d'observer d'association entre l'exposition prénatale aux OP et les scores de mémoire de travail des enfants. Ces résultats sont en contradiction avec ceux préalablement observés dans les 3 études de cohorte nord-américaine présentées dans la première partie de ce travail (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011). Nos données montrent à l'inverse de meilleures scores de compréhension verbale chez les enfants exposés aux plus fortes

concentrations prénatales de DE. Ces résultats doivent être reproduits et interprétés en terme de causalité avec prudence du fait des propriétés neurotoxiques bien établies des OP, des études scientifiques publiées chez l'animal et chez l'humain, ainsi que de nos données qui suggèrent une altération de l'intégrité des processus visuels, et donc du fonctionnement cérébral, de ces mêmes enfants en lien avec l'exposition prénatale à ces molécules. Nos résultats sont cependant en accord avec ceux de la cohorte de l'Ohio qui, bien que ne suggérant pas de relation entre l'exposition prénatale aux OP et les fonctions cognitives des enfants évalués à l'âge scolaire, observent également de meilleures performances cognitives chez les nouveau-nés exposés aux plus fortes concentrations prénatales de ces pesticides (Yolton et al., 2013).

De nombreux facteurs contextuels pourraient expliquer la divergence des résultats observés d'une cohorte à l'autre dans l'étude de la neurotoxicité développementale des OP. Ces facteurs peuvent influencer les effets de l'exposition à des substances chimiques sur le neurodéveloppement et soulèvent la question des facteurs de risque cumulatifs auxquels sont exposés certains enfants au cours de leur développement (Bellinger, Matthews-Bellinger et Kordas, 2016). La fenêtre de temps d'exposition à un composé chimique est l'un de ces facteurs déjà bien établi. Ainsi une molécule neurotoxique qui perturbe les processus de myélinisation n'aura pas les mêmes conséquences selon qu'elle agit à un moment coïncidant avec la myélinisation des aires visuelles ou pendant la myélinisation des aires frontales impliquées dans les fonctions exécutives (Rice et Barone, 2000). D'autres facteurs de risque supplémentaires peuvent venir modifier l'effet d'une molécule neurotoxique sur le développement futur de l'enfant. Ces facteurs peuvent être biologiques (i.e. traumatisme crânien, maladies chroniques), nutritionnels (i.e. carences alimentaires durant la grossesse ou l'enfance, difficultés d'accès à l'eau potable), ou psychologiques (maltraitance, dépression parentale) (Bellinger et al., 2016). Certains enfants peuvent donc cumuler des facteurs de risque pour le neurodéveloppement tandis que d'autres peuvent bénéficier de facteurs protecteurs tels qu'un contexte

médical, social, éducatif ou familial enrichi qui pourraient alors protéger ou compenser pour les effets délétères des molécules neurotoxiques à plus ou moins long terme (Rice et Barone, 2000). Il est aussi possible que les stimulations sociales ou intellectuelles favorables dont bénéficie l'enfant ne masquent que temporairement les effets délétères d'une substance chimique sur l'intégrité du fonctionnement cognitif et que ces effets n'apparaissent que plus tardivement au cours du développement (Rice et Barone, 2000).

Bien qu'un grand nombre de facteurs confondants ait été documenté et pris en compte dans nos analyses statistiques, ces interactions entres facteurs psycho-sociaux et exposition aux substances chimiques pourraient expliquer l'absence d'association significative observée dans notre cohorte ainsi que dans celle de l'Ohio entre l'exposition prénatale aux OP et le développement neuropsychologique des enfants. Ces deux cohortes incluent majoritairement des individus issus d'un milieu socioéconomique aisé et donc bénéficiant d'un contexte social et familial favorable au développement des fonctions cognitives de l'enfant. Les 3 études de cohortes américaines préalablement citées ayant révélé des associations négatives entre l'exposition prénatale aux OP et les fonctions intellectuelles des enfants incluent au contraire des individus issus de milieux particulièrement défavorisés déjà exposés à d'autres facteurs de risque pour le neurodéveloppement. En 2016, les effets de l'interaction entre l'adversité précoce et l'exposition prénatale aux OP sur le QI des enfants ont été étudiés au sein de la cohorte CHAMACOS (Stein et al., 2016). Les auteurs ont observé une plus forte diminution des scores de QI en relation avec l'exposition aux OP lorsque les enfants avaient également vécus de l'adversité précoce (insécurité alimentaire, conflits parentaux etc). Ces interactions se sont également révélées être modifiées par le sexe de l'enfant. Chez les garçons, l'association entre les OP et le QI des enfants s'est révélée être influencée par un environnement éducatif pauvre tandis que chez les filles cette association était davantage influencée par l'adversité maternelle ou l'adversité économique (Stein et

al., 2016). Dans la cohorte de l'Université de Columbia à New York les chercheurs se sont eux aussi posé la question du rôle des facteurs biologiques et sociaux dans la susceptibilité neurodéveloppementale aux OP (Horton, 2012). Contrairement à l'étude précédente aucune interaction n'a été observée entre l'exposition prénatale au Chlorpyrifos, les stimulations familiales mesurées à l'aide du HOME et la mémoire de travail des enfants. Les auteurs mettent cependant en avant une tendance à une plus forte relation entre l'exposition au Chlorpyrifos et la mémoire de travail chez les garçons. L'exposition aux substances chimiques neurotoxiques est en constante interaction avec le contexte de vie de l'enfant, ainsi qu'avec celui de la maman durant sa grossesse. Ceci renforce notre hypothèse selon laquelle la non réplication des résultats de la plupart des études nord-américaine par ce travail de thèse pourrait s'expliquer, du moins en partie, par le niveau socio-économique particulièrement élevé de notre population d'étude.

Ces données sont préoccupantes dans la mesure où les populations les plus exposées aux pesticides peuvent également être les populations qui cumulent le plus de facteurs de risque quant au neurodéveloppement des enfants (Morello-Frosch et Shenassa, 2006). Aux Etats-Unis par exemple, les données de biosurveillance indiquent que les populations dont les concentrations d'OC et d'OP sont les plus importantes sont des populations issus de milieux défavorisés (faible niveau d'étude, minorités ethniques, revenus en dessous du seuil de pauvreté). Dans les pays en développement les enfants sont également exposés à de nombreux facteurs de risque pour le neurodéveloppement (malnutrition, système de soin ou d'assistance sociale insuffisant, etc). Ces populations sont parallèlement exposées à de fortes concentrations de pesticides du fait de mesures d'usage et de sécurité non appliquées, de protections insuffisantes pour les applicateurs et les riverains ainsi que de conditions d'entreposage des produits dangereuses (Kesavachandran et al., 2009). Ces populations peuvent aussi être exposées à des molécules dont l'utilisation est interdite dans de nombreux autres pays du fait d'effets sur la santé et l'environnement

très préoccupants. C'est le cas par exemple pour le DDT qui reste utilisé dans certains pays pour lutter contre les moustiques vecteurs de la malaria. Nos données suggèrent que ces populations plus vulnérables devraient faire l'objet d'une surveillance et d'une protection accrue quant à l'exposition aux pesticides, particulièrement durant la grossesse et les premières années de vie.

5.2.3. OP et fonctions visuelles

Les résultats obtenus avec le FACT montrent une diminution des scores des garçons pour les moyennes et basses fréquences en lien avec l'exposition prénatale aux OP. L'exposition à ces molécules durant cette période critique du développement cérébral pourrait donc altérer la sensibilité au contraste (i.e. aux variations de luminance) des enfants et donc influencer leur faculté à discriminer les objets. Alors qu'une diminution des performances de sensibilité au contraste pour les fréquences spatiales élevées est davantage associée à des altérations optiques situées au niveau de l'œil (par exemple du cristallin), une diminution des performances pour les moyennes et basses fréquences est davantage reliée à des déficits neurologiques extra-oculaires (maladie de Parkinson, sclérose en plaques etc) (Waksman, 2007). Nos données qui montrent une diminution des scores des garçons aux lignes C et D du FACT suggèrent que les atteintes neurotoxiques des OP seraient davantage situées au niveau des aires cérébrales des enfants qu'au niveau oculaire. Ces résultats soutiennent l'hypothèse d'un impact négatif de l'exposition prénatale aux OP sur le développement du cerveau des enfants. Pour la première fois en Europe, cet impact négatif des OP sur le neurodéveloppement est suggéré à des niveaux d'exposition communément mesurés dans la population générale. Bien que ces résultats doivent être interprétés avec prudence, ils suggèrent qu'un grand nombre de personnes pourrait être exposé à des niveaux d'OP préjudiciables au neurodéveloppement des enfants.

Il est important de souligner que les résultats que nous observons avec le FACT diffèrent pour les garçons et pour les filles de notre population d'étude. Des effets de neurotoxicité dépendant du sexe de l'enfant ont préalablement été rapportés dans la littérature scientifique (Marks et al., 2010; Stein et al., 2016). Dans la cohorte CHAMACOS par exemple, les niveaux urinaires de DAP mesurés pendant la grossesse ont été associés à une plus grande prévalence des troubles de l'attention et des symptômes cliniques du TDAH rapportés par les mamans, chez les garçons âgés de 3.5 et 5 ans (Marks et al., 2010). De tels déficits n'ont pas été observés chez les filles de cette même cohorte en lien avec l'exposition prénatale aux OP. Comme mentionné précédemment, dans la cohorte de l'Université Columbia à New York, une plus forte relation entre l'exposition prénatale au Chlorpyrifos et la mémoire de travail a été mise en évidence chez les garçons plutôt que chez les filles [Horton, 2012 #92]. Ces différences de résultats entre les filles et les garçons ont aussi été notées dans les études menées sur la neurotoxicité développementale d'autres pesticides tels que les OC (Gaspar et al., 2015).

Différentes hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ces observations. Les filles et les garçons ne prennent pas part aux mêmes activités, aux mêmes interactions sociales et aux mêmes loisirs au cours de leur développement. En ne fréquentant pas les mêmes milieux les enfants peuvent être confrontés à un schéma d'exposition différent (Mergler, 2012). Filles et garçons peuvent en effet être exposés à des molécules chimiques différentes, la durée de l'exposition avec ces molécules peut varier ainsi que le mode de contact avec ces dernières (voie alimentaire, contact par voie cutanée ou respiratoire). Ces facteurs pourraient cependant difficilement expliquer des différences de scores associées à l'exposition prénatale aux OP. Une seconde hypothèse serait alors que des différences biologiques entres les deux sexes notamment métaboliques et hormonales pourraient expliquer les variations dans les effets des expositions prénatales sur le neurodéveloppement (Mergler, 2012). Ainsi

des différences dans les caractéristiques d'absorption, de métabolisme et d'excrétion des molécules chimiques selon le sexe de l'enfant ainsi que les propriétés de perturbateurs endocriniens suspectés de certains OP pourraient expliquer que tous les enfants ne partagent pas la même susceptibilité face à ces molécules.

5.3. Limites

5.3.1. Mesure de l'exposition aux OP

Différentes approches peuvent être employées afin de mesurer l'exposition moyenne d'un sujet aux pesticides. Il est par exemple possible d'utiliser des questionnaires. Ceux-ci permettent de documenter l'utilisation résidentielle de ces molécules ou l'exposition professionnelle des individus. Les questionnaires peuvent aussi être utilisés pour renseigner les habitudes alimentaires des sujets ce qui permet par la suite d'estimer la prise alimentaire des substances d'intérêt (Sokoloff et al., 2016). Une seconde méthode d'estimation de l'exposition des populations aux pesticides consiste à étudier la proximité des logements avec des zones traitées, le type de cultures présentes, le type de pesticides utilisés sur ces cultures, le nombre de traitements pulvérisés ainsi que leur fréquence (Gunier, Bradman, Harley, Kogut et Eskenazi, 2016). Enfin, bien que couteuse, l'utilisation des biomarqueurs d'exposition reste la méthode privilégiée pour l'évaluation des niveaux d'exposition d'une population aux pesticides. Elle permet une mesure directe et spécifique de certains pesticides d'intéret ou de leurs métabolites dans les urines ou échantillons sanguins des individus. Pour les OP, il est par exemple possible de mesurer l'activité sanguine de l'acétylcholinestérase, l'enzyme inhibée par ces molécules. Cette méthode est principalement utilisée pour les expositions élevées retrouvées dans le cadre professionnel (Sudakin et Stone, 2011). On peut aussi mesurer l'OP d'intérêt directement dans le sang des sujets, ainsi que les métabolites spécifiques ou non spécifiques des OP dans des échantillons urinaires (Sudakin et Stone, 2011). Cette

dernière méthode, utilisée dans le présent travail ainsi que dans les études de cohorte nord-américaine préalablement documentées, présente certaines limites qui peuvent aboutir à des erreurs dans l'estimation de l'exposition des sujets aux OP.

Une fois dans l'organisme, les OP sont rapidement excrétés dans les urines (i.e. 24h-48h) (Costa, 2006). Du fait de la demi-vie courte de ces molécules les métabolites non spécifiques des OP mesurés dans les urines témoignent davantage de l'exposition récente à ces molécules que de l'exposition cumulative sur plusieurs années. Ce problème ne se pose pas avec les OC dont la demi vie est très longue et qui s'accumulent dans les tissus adipeux des êtres vivants. Bien qu'on puisse estimer que les habitudes de vie et alimentaires d'un sujet changent peu d'un jour sur l'autre il est difficile de certifier que le niveau urinaire de DAP mesuré à une date donnée soit une bonne mesure de l'exposition habituelle du sujet et donc chronique aux OP. En ce sens de grandes variations urinaires intra-individuelles des DAP ont pu être observées chez les enfants (Bradman, 2011). Ce problème pourrait être limité en réalisant plusieurs mesures répétées des DAP urinaires chez un même individu mais cela est plus couteux et également plus difficile à mettre en place. Dans la cohorte CHAMACOS des associations statistiquement significatives entre l'exposition prénatale aux OP et le QI des enfants sont observées lorsque la mesure des DAP utilisée est la moyenne des niveaux de DAP dans deux échantillons urinaires prélevés respectivement au premier et troisième trimestre de grossesse. Ces associations ne sont plus statistiquement significatives lorsque les chercheurs n'utilisent qu'un seul des deux échantillons urinaires des mamans.

Le second problème posé par la mesure des métabolites des OP dans les urines tient au fait que les DAP préformés sont présents dans l'environnement et dans les aliments. Il a ainsi été montré que certains aliments contiennent davantage de DAP préformés que de molécules mères (Lu et al., 2005). Il est donc possible que le dosage des DAP dans les urines reflète davantage l'exposition aux métabolites eux

même que l'exposition aux molécules mère actives. L'exposition aux OP pourrait alors être surestimée par cette méthode de mesure.

Malgré ces limites le dosage des DAP urinaires constitue une méthode de choix dans l'évaluation de l'exposition des populations aux OP. Du fait que les métabolites sont dosés dans les urines et non dans le sang des sujets cette méthode possède l'avantage d'être non invasive. Elle est aussi plus simple et précise que l'administration de questionnaires où de nombreux calculs sont nécessaires afin d'estimer l'exposition des individus aux pesticides d'intérêt.

5.3.2. Prise en compte des effets cocktail

De façon générale les études qui s'intéressent aux effets neurodéveloppementaux de l'exposition prénatale à des molécules chimiques ne s'intéressent qu'à l'effet d'une seule molécule ou famille de molécule prise isolément. Pourtant le fœtus est exposé à plusieurs centaines de contaminants environnementaux dont les effets cumulatifs sur la santé et le développement ne sont pas connus (Grandjean et Landrigan, 2006). La multitude des combinaisons possibles entre ces contaminants rend l'évaluation du risque presque impossible. On peut pourtant se demander si l'effet d'un pesticide sur le cerveau en développement est le même lorsque ce pesticide agit seul ou lorsqu'il agit en même temps que 25 autres pesticides, des métaux lourds et des molécules chimiques perturbatrices du système hormonal. Des études in vitro et in vivo montrent que les effets concomitants de plusieurs contaminants de l'environnement dits « effets cocktail » peuvent varier selon les molécules considérées. Par exemple l'effet résultant de l'action de deux molécules peut-être supérieur à la somme des effets isolés de chacune d'entre elles (INSERM, 2013). Certaines molécules agissent en synergie, certaines semblent posséder des actions antagonistes et certaines pourraient potentialiser l'action de molécules qui n'auraient pas agi seules. Afin de

mieux caractériser des risques encourus par les enfants il serait donc pertinent de pouvoir développer une approche prenant en compte les effets cocktail lors de l'évaluation du potentiel de neurotoxicité développementale des pesticides.

5.4. Perspectives

5.4.1. Etudes épidémiologiques sur les risques neurodéveloppementaux de l'exposition à des niveaux communs de pesticides

A l'issu du présent travail de thèse nous pouvons préconiser que davantage d'études longitudinales combinant biomarqueurs d'exposition et évaluation standardisée des fonctions cognitives et sensorielles des enfants soient menées au sein de la population générale. Ceci permettrait de mieux caractériser les risques neurodéveloppementaux associés à l'exposition commune aux OP. L'uniformisation des méthodologies employées d'une étude à l'autre permettrait de rendre les résultats des études plus facilement comparables et interprétables. Ces études devraient dans l'idéal privilégier une approche pluridisciplinaire du développement de l'enfant permettant une meilleure prise en compte des facteurs de risque cumulatif pour le neurodéveloppement ainsi que de l'ensemble des facteurs pouvant interagir avec l'exposition des enfants et le développement de leurs fonctions cognitives et sensorielles. Même si cela est pour le moment très difficile tant d'un point de vue financier que méthodologique, ces études devraient essayer de considérer autant que possible l'exposition prénatale cumulative de l'enfant à un cocktail de molécules chimiques puisque l'étude de l'impact d'une substance unique, isolée, n'est pas un bon reflet de l'exposition effective durant le neurodéveloppement. De plus une vigilance accrue devrait être portée aux populations défavorisées qui pourraient constituer les populations les plus vulnérables à la neurotoxicité de ces molécules et devraient donc faire l'objet de mesure de protections particulières.

5.4.2. Généralisation de l'emploi des méthodes d'évaluation de la neurotoxicité sensorielle

L'étude de l'intégrité du fonctionnement visuel des enfants peut constituer une méthode de choix pour l'étude du potentiel de neurotoxicité développementale de molécules chimiques. Les fonctions visuelles de l'enfant sont en effet considérées matures, donc équivalentes à celle d'un adulte, tôt au cours du développement, i.e. à 10 ans environ (Lewis et Maurer, 2005). A l'inverse certaines aires cérébrales ne sont totalement développées et fonctionnelles que plus tardivement au cours de la vie. C'est le cas par exemple pour le cortex préfrontal dont les processus de myélinisation ne s'achèvent qu'à la fin de l'adolescence/ début de l'âge adulte. Il est plus évident de repérer des défauts d'intégrité d'aires cérébrales matures et pleinement fonctionnelles que d'aires cérébrales qui subissent encore des remaniements et sont en constante évolution. Nous suggérons donc que les processus visuels soient davantage investigués dans les populations pédiatriques lors de l'évaluation du potentiel de neurotoxicité développementale de substances chimiques.

L'étude des processus visuels des enfants, à l'aide de la technique des PEV, du FACT, ou d'autres techniques d'évaluation des processus visuels, peut constituer une méthode de choix dans la détection précoce d'altérations neurodéveloppementales associées à l'exposition à des molécules chimiques. Ceci est bien illustré à travers le suivi des enfants bretons issus de la cohorte PELAGIE. Les résultats obtenus avec la passation des sous-tests du WISC ne permettent pas d'observer d'association avec les niveaux urinaires d'OP de la maman. Cet outil a pourtant préalablement démontré son efficacité dans la détection de la neurotoxicité développementale des OP (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011). A l'inverse l'utilisation du FACT pour mesurer la sensibilité au contraste des enfants au même âge, permet de mettre en évidence de plus faibles performances visuelles chez les garçons en lien avec

l'exposition prénatale à ces molécules. En plus de constituer des méthodes peu couteuses, rapides et non invasives d'investigation des processus visuels, le FACT et les PEV peuvent être des outils suffisamment sensibles pour révéler des déficits neurologiques sous-cliniques ou cliniques associés à l'exposition périnatale à des substances chimiques.

5.4.3. Mesures de santé publique

Les insecticides sont par définition des molécules neurotoxiques et les données scientifiques actuelles suggèrent qu'elles pourraient altérer le neurodéveloppement des enfants, à fortes doses mais également à des concentrations résiduelles auxquelles les populations sont couramment exposées. Parallèlement les données scientifiques montrent que l'exposition à différents types de pesticides est associée à une augmentation du risque de survenue des maladies chroniques actuelles telles que le cancer, les troubles de la reproduction, les allergies, les troubles métaboliques comme le diabète ou l'obésité, ainsi que les maladies neurodégénératives, dans les populations particulièrement exposées tels que les agriculteurs, vétérinaires et vignerons, ainsi qu'au sein de la population générale (INSERM, 2013). Selon le principe de précaution différentes mesures de santé publique pourraient être instaurées par les gouvernements afin de réduire l'exposition des populations aux pesticides, et plus particulièrement aux OP qui restent une classe de pesticides encore largement utilisée dans le monde. Selon ce principe « l'absence de certitudes, compte tenu des connaissances scientifiques et techniques du moment, ne doit pas retarder l'adoption de mesures effectives et proportionnées visant à prévenir un risque dans les domaines de l'environnement, de la santé ou de l'alimentation ».

Parmi les mesures qui pourraient être préconisées, citons l'instauration de zones protégées (i.e. sans traitement) dans des lieux considérés sensibles, notamment aux

abords des écoles, crèches, hôpitaux et habitations des particuliers, ainsi que l'arrêt des traitements préventifs qui sont parfois rendus obligatoires. Afin de réduire l'usage des pesticides de façon ambitieuse les modes de productions agricoles devraient être repensés. Pour cela davantage d'aides publiques devraient être instaurées pour le développement d'une agriculture plus respectueuse de l'environnement et pour la recherche d'alternatives concrètes à l'usage de l'agrochimie. Il faut pouvoir proposer aux agriculteurs d'autres moyens de luttes contre les ravageurs qui leur permettraient de diminuer voir supprimer l'usage des pesticides tout en préservant leurs récoltes. Différentes alternatives existent déjà et devraient être encouragées. Parmi ces alternatives on retrouve l'agro-écologie avec des moyens de luttes biologiques contre les insectes dits indésirables (Wezel et al., 2009). Le choix d'une agriculture plus diversifiée c'est à dire un plus large choix de fruits/céréales/légumes, la rotation des cultures, et la sélection de variétés locales plus adaptées aux contraintes de l'environnement permettrait également une réduction de l'emploi des substances chimiques (Wezel et al., 2009). Des politiques de réduction du gaspillage alimentaire pourraient également être une mesure importante quant à la réduction de l'usage de ces molécules.

Au niveau des expositions professionnelles, les ouvriers agricoles doivent répondre à des normes strictes d'usage et de sécurité lors de la manipulation des pesticides. Parmi ces normes le port de masques respiratoires, lunettes de protection, bottes, combinaisons peuvent être cités. A l'inverse certaines catégories professionnelles manipulent les mêmes molécules chimiques que vignerons et agriculteurs, de façon quotidienne parfois, sans qu'aucune mesure de protection ne soit préconisée. C'est le cas notamment des agents d'entretien des espaces publics, des vétérinaires ou des jardiniers professionnels. Il paraît donc urgent de prendre en considération l'exposition importante de ces populations à ces molécules, particulièrement pour les femmes enceintes, femmes en âge de procréer, parents de jeunes enfants, et d'instaurer des mesures règlementaires pour mieux les protéger.

5.4.4. Modifications des comportements individuels

Au niveau individuel, différents choix peuvent être fait par les consommateurs afin de réduire l'exposition aux insecticides. Le fait de manger des aliments issus de l'agriculture biologique permet par exemple de diminuer son exposition à ces molécules. Une étude a par exemple montré chez des enfants que le passage d'une alimentation conventionnelle à une alimentation biologique pendant 5 jours permettait de diminuer les concentrations urinaires de DAP à des niveaux non détectables (Lu et al., 2008). Du fait du travail plus important que nécessite l'agriculture biologique les produits proposés aux consommateurs ont souvent un cout plus élevé mais celui-ci peut être diminué en favorisant les achats avec moins d'intermédiaires entre le producteur et le consommateur soit les circuits courts telles que les AMAPs (Association pour le Maintien d'une Agriculture Paysane). Le fait de consommer des aliments locaux et de saison permet également de consommer des aliments qui subissent moins de traitements et qui peuvent être biologiques tout en étant moins chers.

L'industrie de la viande est également une industrie qui nécessite un usage important des pesticides car ceux-ci permettent de traiter les céréales qui nourrissent le bétail. Une réduction de la consommation de viande favorise donc une diminution de l'usage des pesticides. Au niveau individuel la viande est aussi une source importante d'OC car ceux-ci s'accumulent dans les tissus adipeux des animaux. Une consommation plus modérée de viande et de poissons placés en haut de la chaine alimentaire au profit de plus petites espèces comme les sardines ou le maquereau peut donc permettre de réduire la prise alimentaire d'OC. Enfin au niveau individuel réduire l'usage domestique des pesticides dans le cas de résidence dans des zones où les insectes ne sont pas vecteur de maladies transmissibles à l'homme (pulvérisateurs,

prises anti-moustiques, insecticides sur les plantes d'intérieur) ainsi que l'utilisation de ces produits dans les jardins est aussi un moyen non négligeable pour réduire son exposition ainsi que celle des autres membres de la famille.

5.5. Conclusion

L'ensemble de nos résultats obtenus auprès des enfants Inuit ainsi que des enfants issus de la population générale française suggèrent que les OC et OP pourraient altérer le neurodéveloppement des enfants, et plus particulièrement perturber le développement des fonctions visuelles, à des doses fortes mais peut être également à des concentrations communément mesurées dans la population générale. En parcourant les différents résultats de nos recherches la période prénatale apparaît comme une période de plus grande vulnérabilité de l'organisme en développement à l'exposition à ces molécules. Certains facteurs protecteurs pourraient potentiellement préserver les enfants des effets neurotoxiques développementaux de certaines molécules. Un suivi dans le temps de ces enfants permettrait de savoir si cette protection ou compensation se maintient dans le temps ou si les effets de neurotoxicité développementale n'apparaissent simplement que plus tard au cours de la vie sous l'effet cumulatif de l'exposition à d'autres contaminants, avec l'âge, ou l'accumulation d'autres facteurs de risque pour le fonctionnement cérébral. Davantage d'études épidémiologiques devraient être menées dans la population générale afin de mieux caractériser les risques neurodéveloppementaux associés à l'exposition prénatale commune aux pesticides. Ces études devraient inclure une évaluation des fonctions sensorielles des enfants lors de l'évaluation de leur neurodéveloppement. Une protection accrue devrait être portée aux populations vulnérables, femmes enceintes ou en âge de procréer, individus issus de milieux défavorisés, catégories professionnelles fortement exposées. Différentes mesures publiques ou choix individuels peuvent être proposés afin de protéger davantage les

populations sensibles ainsi que la population générale des propriétés neurotoxiques des pesticides.

REFERENCES

Abb, M., Breuer, J. V., Zeitz, C. et Lorenz, W. (2010). Analysis of pesticides and PCBs in waste wood and house dust. *Chemosphere, 81*(4), 488-493. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.07.042

Adetona, O., Horton, K., Sjodin, A., Jones, R., Hall, D. B., Aguillar-Villalobos, M., Naeher, L. P. (2013). Concentrations of select persistent organic pollutants across pregnancy trimesters in maternal and in cord serum in Trujillo, Peru. *Chemosphere*. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.043

Aldridge, J. E., Meyer, A., Seidler, F. J. et Slotkin, T. A. (2005). Alterations in central nervous system serotonergic and dopaminergic synaptic activity in adulthood after prenatal or neonatal chlorpyrifos exposure. *Environ Health Perspect, 113*(8), 1027-1031.

Ayotte, P., Muckle, G., Jacobson, J. L., Jacobson, S. W., Dewailly, E. et Inuit Cohort, S. (2003). Assessment of pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls: lessons from the Inuit Cohort Study. *Environ Health Perspect, 111*(9), 1253-1258.

Baek, S. Y., Choi, S. D. et Chang, Y. S. (2011). Three-year atmospheric monitoring of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in polar regions and the South Pacific. *Environ Sci Technol, 45*(10), 4475-4482. doi: 10.1021/es1042996

Bakirci, G. T., Yaman Acay, D. B., Bakirci, F. et Otles, S. (2014). Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region, Turkey. *Food Chem, 160*, 379-392. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.051

Barrie, L. A., Gregor, D., Hargrave, B., Lake, R., Muir, D., Shearer, R., Bidleman, T. (1992). Arctic contaminants: sources, occurrence and pathways. *Sci Total Environ, 122*(1-2), 1-74. doi: 0048-9697(92)90245-N [pii]

Bedi, J. S., Gill, J. P., Aulakh, R. S., Kaur, P., Sharma, A. et Pooni, P. A. (2013). Pesticide residues in human breast milk: risk assessment for infants from Punjab, India. *Sci Total Environ, 463-464*, 720-726. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.066

Bellinger, D. C., Matthews-Bellinger, J. A. et Kordas, K. (2016). A developmental perspective on early-life exposure to neurotoxicants. *Environ Int, 94*, 103-112. doi: 10.1016/j.envint.2016.05.014

Beyer, C. (1999). Estrogen and the developing mammalian brain. *Anat Embryol (Berl), 199*(5), 379-390.

Bhasin, T. K., Brocksen, S., Avchen, R. N. et Van Naarden Braun, K. (2006). Prevalence of four developmental disabilities among children aged 8 years--Metropolitan Atlanta Developmental Disabilities Surveillance Program, 1996 and 2000. *MMWR Surveill Summ, 55*(1), 1-9.

Bouchard, M. F., Chevrier, J., Harley, K. G., Kogut, K., Vedar, M., Calderon, N., Eskenazi, B. (2011). Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. *Environ Health Perspect, 119*(8), 1189-1195. doi: 10.1289/ehp.1003185

Boucher, O., Bastien, C. H., Muckle, G., Saint-Amour, D., Jacobson, S. W. et Jacobson, J. L. (2010). Behavioural correlates of the P3b event-related potential in school-age children. *Int J Psychophysiol, 76*(3), 148-157. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2010.03.005

Boucher, O., Bastien, C. H., Saint-Amour, D., Dewailly, E., Ayotte, P., Jacobson, J. L., Muckle, G. (2010). Prenatal exposure to methylmercury and PCBs affects distinct stages of information processing: An event-related potential study with Inuit children. *Neurotoxicology, 18*, 18.

Boucher, O., Burden, M. J., Muckle, G., Saint-Amour, D., Ayotte, P., Dewailly, E., Jacobson, J. L. (2012). Response inhibition and error monitoring during a visual go/no-go task in inuit children exposed to lead, polychlorinated biphenyls, and methylmercury. *Environ Health Perspect, 120*(4), 608-615. doi: 10.1289/ehp.1103828

Boucher, O., Muckle, G., Saint-Amour, D., Dewailly, E., Ayotte, P., Jacobson, S. W., Bastien, C. H. (2009). The relation of lead neurotoxicity to the event-related potential P3b component in Inuit children from arctic Quebec. *Neurotoxicology, 30*(6), 1070-1077. doi: 10.1016/j.neuro.2009.06.008

Boucher, O., Simard, M. N., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Cordier, S. (2013). Exposure to an organochlorine pesticide (chlordecone) and development of 18-month-old infants. *Neurotoxicology, 35*, 162-168. doi: 10.1016/j.neuro.2013.01.007

Bouvier, G., Blanchard, O., Momas, I. et Seta, N. (2006a). Environmental and biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides: application to occupationally and non-occupationally exposed adult populations. *J Expo Sci Environ Epidemiol, 16*(5), 417-426. doi: 10.1038/sj.jes.7500473

Bouvier, G., Blanchard, O., Momas, I. et Seta, N. (2006b). Pesticide exposure of non-occupationally exposed subjects compared to some occupational exposure: a French pilot study. *Sci Total Environ, 366*(1), 74-91. doi: 10.1016/j.scitotenv.2005.08.016

Boyle, C. A., Boulet, S., Schieve, L. A., Cohen, R. A., Blumberg, S. J., Yeargin-Allsopp, M., Kogan, M. D. (2011). Trends in the prevalence of developmental disabilities in US children, 1997-2008. *Pediatrics, 127*(6), 1034-1042. doi: 10.1542/peds.2010-2989

Bradley, A. et Freeman, R. D. (1982). Contrast sensitivity in children. *Vision Res, 22*(8), 953-959.

Bradman, A., Barr, D. B., Claus Henn, B. G., Drumheller, T., Curry, C. et Eskenazi, B. (2003). Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect, 111*(14), 1779-1782.

Bradman, A., Castorina, R., Barr, D. B., Chevrier, J., Harnly, M. E., Eisen, E. A., Eskenazi, B. (2011). Determinants of organophosphorus pesticide urinary metabolite levels in young children living in an agricultural community. *Int J Environ Res Public Health, 8*(4), 1061-1083. doi: 10.3390/ijerph8041061

Bradman, A., Eskenazi, B., Barr, D. B., Bravo, R., Castorina, R., Chevrier, J., McKone, T. E. (2005). Organophosphate urinary metabolite levels during pregnancy and after delivery in women living in an agricultural community. *Environ Health Perspect, 113*(12), 1802-1807.

Bradman, A., Kogut, K., Eisen, E. A., Jewell, N. P., Quiros-Alcala, L., Castorina, R., Eskenazi, B. (2013). Variability of organophosphorous pesticide metabolite levels in spot and 24-hr urine samples collected from young children during 1 week. *Environ Health Perspect, 121*(1), 118-124. doi: 10.1289/ehp.1104808

Cao, L. L., Yan, C. H., Yu, X. D., Tian, Y., Zhao, L., Liu, J. X. et Shen, X. M. (2011). Relationship between serum concentrations of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and dietary habits of pregnant women in Shanghai. *Sci Total Environ, 409*(16), 2997-3002. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.04.040

Carson, R. (2002). *Silent spring*. (40th^{e} éd.). Boston: Houghton Mifflin Company

Cartier, C. et Saint-Amour, D. (*in press*). Prenatal Omega-3 Fatty Acids Intake and Visual Function. Dans V. Preedy (dir.), *Nutrition, Diet, the Eye and Vision*: Elsevier.

Cartier, C., Warembourg, C., Le Maner-Idrissi, G., Lacroix, A., Rouget, F., Monfort, C., Chevrier, C. (2016). Organophosphate Insecticide Metabolites in Prenatal and Childhood Urine Samples and Intelligence Scores at 6 Years of Age: Results from the Mother-Child PELAGIE Cohort (France). *Environ Health Perspect, 124*(5), 674-680. doi: 10.1289/ehp.1409472

Castorina, R., Bradman, A., Fenster, L., Barr, D. B., Bravo, R., Vedar, M. G., Eskenazi, B. (2010). Comparison of current-use pesticide and other toxicant urinary metabolite levels among pregnant women in the CHAMACOS cohort and NHANES. *Environ Health Perspect, 118*(6), 856-863. doi: 10.1289/ehp.0901568

CDC. (2009). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals (C. f. D. C. a. P. U.S. Department of Health and Human Services, Trans.). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention.

CDC. (2010). Increasing prevalence of parent-reported attention-deficit/hyperactivity disorder among children --- United States, 2003 and 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 59*(44), 1439-1443.

Chevrier, C., Limon, G., Monfort, C., Rouget, F., Garlantezec, R., Petit, C., Cordier, S. (2011). Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect, 119*(7), 1034-1041. doi: 10.1289/ehp.1002775

Coats, J. R. (1990). Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environ Health Perspect, 87*, 255-262.

Cohn, B. A., Wolff, M. S., Cirillo, P. M. et Sholtz, R. I. (2007). DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect, 115*(10), 1406-1414. doi: 10.1289/ehp.10260

Colborn, T., Dumanoski, D., Peterson Myers, J. (1992). *Our stolen future*. Edition Plume

Colborn, T. (2004). Neurodevelopment and endocrine disruption. *Environ Health Perspect, 112*(9), 944-949.

Costa, L. G. (2006). Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta, 366*(1-2), 1-13. doi: 10.1016/j.cca.2005.10.008

Curl, C. L., Fenske, R. A., Kissel, J. C., Shirai, J. H., Moate, T. F., Griffith, W., Thompson, B. (2002). Evaluation of take-home organophosphorus pesticide exposure among agricultural workers and their children. *Environ Health Perspect, 110*(12), A787-792.

Dallaire, R., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Guldner, L., Cordier, S. (2012). Cognitive, visual, and motor development of 7-month-old Guadeloupean infants exposed to chlordecone. *Environ Res, 118*, 79-85. doi: 10.1016/j.envres.2012.07.006

Danzo, B. J. (1997). Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. *Environ Health Perspect, 105*(3), 294-301.

Davies, T. G., Field, L. M., Usherwood, P. N. et Williamson, M. S. (2007). DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life, 59*(3), 151-162. doi: 10.1080/15216540701352042

De Courten, C. et Garey, L. J. (1983). [Morphological development of the primary visual pathway in the child]. *J Fr Ophtalmol, 6*(2), 187-202.

De Jager, C., Farias, P., Barraza-Villarreal, A., Avila, M. H., Ayotte, P., Dewailly, E., Bailey, J. L. (2006). Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: a cross-sectional study. *J Androl, 27*(1), 16-27. doi: 27/1/16 [pii]10.2164/jandrol.05121

Dewailly, E., Ayotte, P., Bruneau, S., Gingras, S., Belles-Isles, M. et Roy, R. (2000). Susceptibility to infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorines. *Environ Health Perspect, 108*(3), 205-211. doi: sc271_5_1835 [pii]

Dewailly, E., Ayotte, P., Bruneau, S., Laliberte, C., Muir, D. C. et Norstrom, R. J. (1993). Inuit exposure to organochlorines through the aquatic food chain in arctic quebec. *Environ Health Perspect, 101*(7), 618-620.

Di Russo, F., Martinez, A., Sereno, M. I., Pitzalis, S. et Hillyard, S. A. (2002). Cortical sources of the early components of the visual evoked potential. *Hum Brain Mapp, 15*(2), 95-111.

Di Russo, F., Pitzalis, S., Spitoni, G., Aprile, T., Patria, F., Spinelli, D. et Hillyard, S. A. (2005). Identification of the neural sources of the pattern-reversal VEP. *Neuroimage, 24*(3), 874-886. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.09.029

Diaz, G., Ortiz, R., Schettino, B., Vega, S. et Gutierrez, R. (2009). Organochlorine pesticides residues in bottled drinking water from Mexico City. *Bull Environ Contam Toxicol, 82*(6), 701-704. doi: 10.1007/s00128-009-9687-7

Donauer, S., Altaye, M., Xu, Y., Sucharew, H., Succop, P., Calafat, A. M., Yolton, K. (2016). An Observational Study to Evaluate Associations Between Low-Level Gestational Exposure to Organophosphate Pesticides and Cognition During Early Childhood. *Am J Epidemiol, 184*(5), 410-418. doi: 10.1093/aje/kwv447

Ellemberg, D., Lewis, T. L., Liu, C. H. et Maurer, D. (1999). Development of spatial and temporal vision during childhood. *Vision Res, 39*(14), 2325-2333.

Engel, S. M., Berkowitz, G. S., Barr, D. B., Teitelbaum, S. L., Siskind, J., Meisel, S. J., Wolff, M. S. (2007). Prenatal organophosphate metabolite and organochlorine levels and performance on the Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scale in a multiethnic pregnancy cohort. *Am J Epidemiol, 165*(12), 1397-1404. doi: 10.1093/aje/kwm029

Engel, S. M., Wetmur, J., Chen, J., Zhu, C., Barr, D. B., Canfield, R. L. et Wolff, M. S. (2011). Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood. *Environ Health Perspect, 119*(8), 1182-1188. doi: 10.1289/ehp.1003183

Eskenazi, B., Huen, K., Marks, A., Harley, K. G., Bradman, A., Barr, D. B. et Holland, N. (2010). PON1 and neurodevelopment in children from the CHAMACOS study exposed to organophosphate pesticides in utero. *Environ Health Perspect, 118*(12), 1775-1781. doi: 10.1289/ehp.1002234

Eskenazi, B., Marks, A. R., Bradman, A., Fenster, L., Johnson, C., Barr, D. B. et Jewell, N. P. (2006). In utero exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and neurodevelopment among young Mexican American children. *Pediatrics, 118*(1), 233-241. doi: 10.1542/peds.2005-3117

Eskenazi, B., Marks, A. R., Bradman, A., Harley, K., Barr, D. B., Johnson, C., Jewell, N. P. (2007). Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect, 115*(5), 792-798. doi: 10.1289/ehp.9828

Ethier, A. A., Muckle, G., Bastien, C., Dewailly, E., Ayotte, P., Arfken, C., Saint-Amour, D. (2012). Effects of environmental contaminant exposure on visual brain development: a prospective electrophysiological study in school-aged children. *Neurotoxicology, 33*(5), 1075-1085. doi: 10.1016/j.neuro.2012.05.010

Facemire, C. F., Gross, T. S. et Guillette, L. J., Jr. (1995). Reproductive impairment in the Florida panther: nature or nurture? *Environ Health Perspect, 103 Suppl 4*, 79-86.

Fenske, R. A., Lu, C., Negrete, M. et Galvin, K. (2013). Breaking the take home pesticide exposure pathway for agricultural families: workplace predictors of residential contamination. *Am J Ind Med, 56*(9), 1063-1071. doi: 10.1002/ajim.22225

Fry, D. M. et Toone, C. K. (1981). DDT-induced feminization of gull embryos. *Science, 213*(4510), 922-924.

Furlong, M. A., Engel, S. M., Barr, D. B. et Wolff, M. S. (2014). Prenatal exposure to organophosphate pesticides and reciprocal social behavior in childhood. *Environ Int, 70*, 125-131. doi: 10.1016/j.envint.2014.05.011

Garfitt, S. J., Jones, K., Mason, H. J. et Cocker, J. (2002). Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicol Lett, 134*(1-3), 105-113.

Gaspar, F. W., Harley, K. G., Kogut, K., Chevrier, J., Mora, A. M., Sjodin, A. et Eskenazi, B. (2015). Prenatal DDT and DDE exposure and child IQ in the CHAMACOS cohort. *Environ Int, 85*, 206-212. doi: 10.1016/j.envint.2015.09.004

Gladen, B. C. et Rogan, W. J. (1991). Effects of perinatal polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene on later development. *J Pediatr, 119*(1 Pt 1), 58-63.

Gladen, B. C., Rogan, W. J., Hardy, P., Thullen, J., Tingelstad, J. et Tully, M. (1988). Development after exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene transplacentally and through human milk. *J Pediatr, 113*(6), 991-995.

Gonzalez-Alzaga, B., Lacasana, M., Aguilar-Garduno, C., Rodriguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M. et Hernandez, A. F. (2013). A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicol Lett*. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.11.019

Gonzalez-Alzaga, B., Lacasana, M., Aguilar-Garduno, C., Rodriguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M. et Hernandez, A. F. (2014). A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicol Lett, 230*(2), 104-121. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.11.019

Grandjean, P., Harari, R., Barr, D. B. et Debes, F. (2006). Pesticide exposure and stunting as independent predictors of neurobehavioral deficits in Ecuadorian school children. *Pediatrics, 117*(3), e546-556. doi: 10.1542/peds.2005-1781

Grandjean, P. et Landrigan, P. J. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet, 368*(9553), 2167-2178. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69665-7

Grandjean, P. et Landrigan, P. J. (2014). Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol, 13*(3), 330-338. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70278-3

Grandjean, P., White, R. F., Sullivan, K., Debes, F., Murata, K., Otto, D. A. et Weihe, P. (2001). Impact of contrast sensitivity performance on visually presented neurobehavioral tests in mercury-exposed children. *Neurotoxicol Teratol, 23*(2), 141-146.

Gray, L. E., Ostby, J., Furr, J., Wolf, C. J., Lambright, C., Parks, L., Guillette, L. (2001). Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Hum Reprod Update, 7*(3), 248-264.

Griffith, W., Curl, C. L., Fenske, R. A., Lu, C. A., Vigoren, E. M. et Faustman, E. M. (2011). Organophosphate pesticide metabolite levels in pre-school children in an agricultural community: within- and between-child variability in a longitudinal study. *Environ Res, 111*(6), 751-756. doi: 10.1016/j.envres.2011.05.008

Guillette, L. J., Jr., Gross, T. S., Masson, G. R., Matter, J. M., Percival, H. F. et Woodward, A. R. (1994). Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. *Environ Health Perspect, 102*(8), 680-688.

Gunier, R. B., Bradman, A., Harley, K. G., Kogut, K. et Eskenazi, B. (2016). Prenatal Residential Proximity to Agricultural Pesticide Use and IQ in 7-Year-Old Children. *Environ Health Perspect*. doi: 10.1289/EHP504

Handal, A. J., Harlow, S. D., Breilh, J. et Lozoff, B. (2008). Occupational exposure to pesticides during pregnancy and neurobehavioral development of infants and toddlers. *Epidemiology, 19*(6), 851-859. doi: 10.1097/EDE.0b013e318187cc5d

Harari, R., Julvez, J., Murata, K., Barr, D., Bellinger, D. C., Debes, F. et Grandjean, P. (2010). Neurobehavioral deficits and increased blood pressure in school-age children prenatally exposed to pesticides. *Environ Health Perspect, 118*(6), 890-896. doi: 10.1289/ehp.0901582

HealthCanada. (2010). Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada: Health Canada.

Heindel, J. J., Balbus, J., Birnbaum, L., Brune-Drisse, M. N., Grandjean, P., Gray, K., Hanson, M. (2015). Developmental Origins of Health and Disease: Integrating Environmental Influences. *Endocrinology, 156*(10), 3416-3421. doi: 10.1210/EN.2015-1394

Hermanowicz, A., Nawarska, Z., Borys, D. et Maslankiewicz, A. (1982). The neutrophil function and infectious diseases in workers occupationally exposed to organochloride insecticides. *Int Arch Occup Environ Health, 50*(4), 329-340.

Horton, M. K., Kahn, L. G., Perera, F., Barr, D. B. et Rauh, V. (2012). Does the home environment and the sex of the child modify the adverse effects of prenatal exposure to chlorpyrifos on child working memory? *Neurotoxicol Teratol, 34*(5), 534-541. doi: 10.1016/j.ntt.2012.07.004

Howdeshell, K. L. (2002). A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. *Environ Health Perspect, 110 Suppl 3*, 337-348.

Huttenlocher, P. R., de Courten, C., Garey, L. J. et Van der Loos, H. (1982). Synaptogenesis in human visual cortex--evidence for synapse elimination during normal development. *Neurosci Lett, 33*(3), 247-252.

INSERM. (2013). Pesticides: Effets sur la santé- Une expertise collective de l'Inserm.

Jacobson, J. L. et Jacobson, S. W. (1996). Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *N Engl J Med, 335*(11), 783-789. doi: 10.1056/NEJM199609123351104

Jacobson, J. L., Jacobson, S. W., Muckle, G., Kaplan-Estrin, M., Ayotte, P. et Dewailly, E. (2008). Beneficial effects of a polyunsaturated fatty acid on infant development: evidence from the inuit of arctic Quebec. *J Pediatr, 152*(3), 356-364. doi: 10.1016/j.jpeds.2007.07.008

Jacques, C., Levy, E., Muckle, G., Jacobson, S. W., Bastien, C., Dewailly, E., Saint-Amour, D. (2011). Long-term effects of prenatal omega-3 fatty acid intake on visual function in school-age children. *J Pediatr, 158*(1), 83-90, 90 e81. doi: S0022-3476(10)00570-6 [pii]10.1016/j.jpeds.2010.06.056

Jaraczewska, K., Lulek, J., Covaci, A., Voorspoels, S., Kaluba-Skotarczak, A., Drews, K. et Schepens, P. (2006). Distribution of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and polybrominated diphenyl ethers in human umbilical cord serum, maternal serum and milk from Wielkopolska region, Poland. *Sci Total Environ, 372*(1), 20-31. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.03.030

Julvez, J., Debes, F., Weihe, P., Choi, A. L. et Grandjean, P. (2011). Thyroid dysfunction as a mediator of organochlorine neurotoxicity in preschool children. *Environ Health Perspect, 119*(10), 1429-1435. doi: 10.1289/ehp.1003172

Kaushik, C. P., Sharma, H. R. et Kaushik, A. (2012). Organochlorine pesticide residues in drinking water in the rural areas of Haryana, India. *Environ Monit Assess, 184*(1), 103-112. doi: 10.1007/s10661-011-1950-9

Kelce, W. R., Stone, C. R., Laws, S. C., Gray, L. E., Kemppainen, J. A. et Wilson, E. M. (1995). Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature, 375*(6532), 581-585. doi: 10.1038/375581a0

Kesavachandran, C. N., Fareed, M., Pathak, M. K., Bihari, V., Mathur, N. et Srivastava, A. K. (2009). Adverse health effects of pesticides in agrarian populations of developing countries. *Rev Environ Contam Toxicol, 200*, 33-52. doi: 10.1007/978-1-4419-0028-9_2

Kim, S., Park, J., Kim, H. J., Lee, J. J., Choi, G., Choi, S., Choi, K. (2015). Association between Several Persistent Organic Pollutants and Thyroid Hormone Levels in Cord Blood Serum and Bloodspot of the Newborn Infants of Korea. *PLoS One, 10*(5), e0125213. doi: 10.1371/journal.pone.0125213

Kogan, M. D., Blumberg, S. J., Schieve, L. A., Boyle, C. A., Perrin, J. M., Ghandour, R. M., van Dyck, P. C. (2009). Prevalence of parent-reported diagnosis of autism spectrum disorder among children in the US, 2007. *Pediatrics, 124*(5), 1395-1403. doi: 10.1542/peds.2009-1522

Kolb, B. et Whishaw, I. (2001). *An introduction to Brain and Behavior*. Worth Publishers, New York and Basingstoke.

Korrick, S. A. et Sagiv, S. K. (2008). Polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr, 20*(2), 198-204. doi: 10.1097/MOP.0b013e3282f6a4e900008480-200804000-00017 [pii]

Koutroulakis, D., Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Alegakis, A. K., Theodoropoulou, E., Kavvalakis, M. P., Tsatsakis, A. M. (2014). Dialkyl phosphates in amniotic fluid as a biomarker of fetal exposure to organophosphates in Crete, Greece; association with fetal growth. *Reprod Toxicol, 46*, 98-105. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.03.010

Lambert, W. E., Lasarev, M., Muniz, J., Scherer, J., Rothlein, J., Santana, J. et McCauley, L. (2005). Variation in organophosphate pesticide metabolites in urine of children living in agricultural communities. *Environ Health Perspect, 113*(4), 504-508.

Landrigan, P. J. et Miodovnik, A. (2011). Children's health and the environment: an overview. *Mt Sinai J Med, 78*(1), 1-10. doi: 10.1002/msj.20236

Lewis, T. L. et Maurer, D. (2005). Multiple sensitive periods in human visual development: evidence from visually deprived children. *Dev Psychobiol, 46*(3), 163-183. doi: 10.1002/dev.20055

Llop, S., Ballester, F., Vizcaino, E., Murcia, M., Lopez-Espinosa, M. J., Rebagliato, M., Grimalt, J. O. (2010). Concentrations and determinants of organochlorine levels among pregnant women in Eastern Spain. *Sci Total Environ, 408*(23), 5758-5767. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.07.085

Llop, S., Julvez, J., Fernandez-Somoano, A., Santa Marina, L., Vizcaino, E., Iniguez, C., Ballester, F. (2013). Prenatal and postnatal insecticide use and infant neuropsychological development in a multicenter birth cohort study. *Environ Int, 59*, 175-182. doi: 10.1016/j.envint.2013.06.010

Lu, C., Barr, D. B., Pearson, M. A. et Waller, L. A. (2008). Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environ Health Perspect, 116*(4), 537-542. doi: 10.1289/ehp.10912

Lu, C., Bravo, R., Caltabiano, L. M., Irish, R. M., Weerasekera, G. et Barr, D. B. (2005). The presence of dialkylphosphates in fresh fruit juices: implication for organophosphorus pesticide exposure and risk assessments. *J Toxicol Environ Health A, 68*(3), 209-227. doi: 10.1080/15287390590890554

Luck, S. J. (2005). *An introduction to the event-related potential technique*. The Massachussets Institute of Technology Press.

Maldonado, G. et Greenland, S. (1993). Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiol, 138*(11), 923-936.

Marks, A. R., Harley, K., Bradman, A., Kogut, K., Barr, D. B., Johnson, C., Eskenazi, B. (2010). Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children: the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect, 118*(12), 1768-1774. doi: 10.1289/ehp.1002056

Matsumura, F. et Narahashi, T. (1971). ATPase inhibition and electrophysiological change caused by DDT and related neuroactive agents in lobster nerve. *Biochem Pharmacol, 20*(4), 825-837.

Matsumura, F. et Patil, K. C. (1969). Adenosine triphosphatase. Sensitive to DDT in synapses of rat brain. *Science, 166*(3901), 121-122.

McGlynn, K. A., Quraishi, S. M., Graubard, B. I., Weber, J. P., Rubertone, M. V. et Erickson, R. L. (2008). Persistent organochlorine pesticides and risk of testicular germ cell tumors. *J Natl Cancer Inst, 100*(9), 663-671. doi: 10.1093/jnci/djn101

Mergler, D. (2012). Neurotoxic exposures and effects: gender and sex matter! Hanninen Lecture 2011. *Neurotoxicology, 33*(4), 644-651. doi: 10.1016/j.neuro.2012.05.009

Miodovnik, A. (2011). Environmental neurotoxicants and developing brain. *Mt Sinai J Med, 78*(1), 58-77. doi: 10.1002/msj.20237

Moccia, R. D., Fox, G. A. et Britton, A. (1986). A quantitative assessment of thyroid histopathology of herring gulls (Larus argentatus) from the Great Lakes and a hypothesis on the causal role of environmental contaminants. *J Wildl Dis, 22*(1), 60-70.

Molloy, C., Doyle, L. W., Makrides, M. et Anderson, P. J. (2012). Docosahexaenoic Acid and Visual Functioning in Preterm Infants: A Review. *Neuropsychol Rev*. doi: 10.1007/s11065-012-9216-z

Montgomery, M. P., Kamel, F., Saldana, T. M., Alavanja, M. C. et Sandler, D. P. (2008). Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural Health Study, 1993-2003. *Am J Epidemiol, 167*(10), 1235-1246. doi: kwn028 [pii]10.1093/aje/kwn028

Morello-Frosch, R. et Shenassa, E. D. (2006). The environmental "riskscape" and social inequality: implications for explaining maternal and child health disparities. *Environ Health Perspect, 114*(8), 1150-1153.

Morgan, M. K., Sheldon, L. S., Croghan, C. W., Jones, P. A., Robertson, G. L., Chuang, J. C., Lyu, C. W. (2005). Exposures of preschool children to chlorpyrifos and its degradation product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in their everyday environments. *J Expo Anal Environ Epidemiol, 15*(4), 297-309. doi: 10.1038/sj.jea.7500406

Morse, N. L. (2012). Benefits of Docosahexaenoic Acid, Folic Acid, Vitamin D and Iodine on Foetal and Infant Brain Development and Function Following Maternal Supplementation during Pregnancy and Lactation. *Nutrients, 4*(7), 799-840. doi: 10.3390/nu4070799

Muckle, G., Ayotte, P., Dewailly, E. E., Jacobson, S. W. et Jacobson, J. L. (2001). Prenatal exposure of the northern Quebec Inuit infants to environmental contaminants. *Environ Health Perspect, 109*(12), 1291-1299.

Muckle, G., Dewailly, E. et Ayotte, P. (1998). Prenatal exposure of Canadian children to polychlorinated biphenyls and mercury. *Can J Public Health, 89 Suppl 1*, S20-25, 22-27.

Multigner, L., Ndong, J. R., Giusti, A., Romana, M., Delacroix-Maillard, H., Cordier, S., Blanchet, P. (2010). Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J Clin Oncol, 28*(21), 3457-3462. doi: JCO.2009.27.2153 [pii]10.1200/JCO.2009.27.2153

Munoz-Quezada, M. T., Lucero, B. A., Barr, D. B., Steenland, K., Levy, K., Ryan, P. B., Vega, C. (2013). Neurodevelopmental effects in children associated with exposure to organophosphate pesticides: a systematic review. *Neurotoxicology, 39*, 158-168. doi: 10.1016/j.neuro.2013.09.003

Murata, K., Weihe, P., Renzoni, A., Debes, F., Vasconcelos, R., Zino, F., Grandjean, P. (1999). Delayed evoked potentials in children exposed to methylmercury from seafood. *Neurotoxicol Teratol, 21*(4), 343-348.

Narahashi, T. (2000). Neuroreceptors and ion channels as the basis for drug action: past, present, and future. *J Pharmacol Exp Ther, 294*(1), 1-26.

Narahashi, T. et Haas, H. G. (1967). DDT: interaction with nerve membrane conductance changes. *Science, 157*(3795), 1438-1440.

Needham, L. L. (2005). Assessing exposure to organophosphorus pesticides by biomonitoring in epidemiologic studies of birth outcomes. *Environ Health Perspect, 113*(4), 494-498.

Nougadere, A., Sirot, V., Kadar, A., Fastier, A., Truchot, E., Vergnet, C., Leblanc, J. C. (2012). Total diet study on pesticide residues in France: levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers. *Environ Int, 45*, 135-150. doi: 10.1016/j.envint.2012.02.001

Oates, L., Cohen, M., Braun, L., Schembri, A. et Taskova, R. (2014). Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. *Environ Res, 132*, 105-111. doi: 10.1016/j.envres.2014.03.021

Odom, J. V., Bach, M., Barber, C., Brigell, M., Marmor, M. F., Tormene, A. P., Vaegan. (2004). Visual evoked potentials standard (2004). *Doc Ophthalmol, 108*(2), 115-123.

Osorio-Valencia, E., Torres-Sanchez, L., Lopez-Carrillo, L., Cebrian, M. E., Rothenberg, S. J., Hernandez Chavez Mdel, C. et Schnaas, L. (2015). Prenatal p,p'-DDE exposure and establishment of lateralization and spatial orientation in Mexican preschooler. *Neurotoxicology, 47*, 1-7. doi: 10.1016/j.neuro.2014.12.011

Otto, D. A. (1987). The assessment of neurotoxicity in children. Electrophysiological methods. *Monogr Am Assoc Ment Defic*(8), 139-158.

Patayova, H., Wimmerova, S., Lancz, K., Palkovicova, L., Drobna, B., Fabisikova, A., Trnovec, T. (2013). Anthropometric, socioeconomic, and maternal health determinants of placental transfer of organochlorine compounds. *Environ Sci Pollut Res Int*. doi: 10.1007/s11356-013-1786-7

Patel, C. J., Bhattacharya, J. et Butte, A. J. (2010). An Environment-Wide Association Study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. *PLoS One, 5*(5), e10746. doi: 10.1371/journal.pone.0010746

Petit, C., Blangiardo, M., Richardson, S., Coquet, F., Chevrier, C. et Cordier, S. (2012). Association of environmental insecticide exposure and fetal growth with a Bayesian model including multiple exposure sources: the PELAGIE mother-child cohort. *Am J Epidemiol, 175*(11), 1182-1190. doi: 10.1093/aje/kwr422

Petit, C., Chevrier, C., Durand, G., Monfort, C., Rouget, F., Garlantezec, R. et Cordier, S. (2010). Impact on fetal growth of prenatal exposure to pesticides due to agricultural activities: a prospective cohort study in Brittany, France. *Environ Health, 9*, 71. doi: 10.1186/1476-069X-9-71

Plusquellec, P., Muckle, G., Dewailly, E., Ayotte, P., Begin, G., Desrosiers, C., Poitras, K. (2010). The relation of environmental contaminants exposure to behavioral indicators in Inuit preschoolers in Arctic Quebec. *Neurotoxicology, 31*(1), 17-25. doi: S0161-813X(09)00231-9 [pii]10.1016/j.neuro.2009.10.008

Porterfield, S. P. (1994). Vulnerability of the developing brain to thyroid abnormalities: environmental insults to the thyroid system. *Environ Health Perspect, 102 Suppl 2*, 125-130.

Porterfield, S. P. et Hendrich, C. E. (1993). The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development--current perspectives. *Endocr Rev, 14*(1), 94-106.

Puertas, R., Lopez-Espinosa, M. J., Cruz, F., Ramos, R., Freire, C., Perez-Garcia, M., Olea, N. (2010). Prenatal exposure to mirex impairs neurodevelopment at age of 4 years. *Neurotoxicology, 31*(1), 154-160. doi: 10.1016/j.neuro.2009.09.009

Qiao, D., Seidler, F. J. et Slotkin, T. A. (2005). Oxidative mechanisms contributing to the developmental neurotoxicity of nicotine and chlorpyrifos. *Toxicol Appl Pharmacol, 206*(1), 17-26. doi: 10.1016/j.taap.2004.11.003

Qiao, D., Seidler, F. J., Tate, C. A., Cousins, M. M. et Slotkin, T. A. (2003). Fetal chlorpyrifos exposure: adverse effects on brain cell development and cholinergic biomarkers emerge postnatally and continue into adolescence and adulthood. *Environ Health Perspect, 111*(4), 536-544.

Qu, W., Suri, R. P., Bi, X., Sheng, G. et Fu, J. (2010). Exposure of young mothers and newborns to organochlorine pesticides (OCPs) in Guangzhou, China. *Sci Total Environ, 408*(16), 3133-3138. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.04.023

Rauch, S. A., Braun, J. M., Barr, D. B., Calafat, A. M., Khoury, J., Montesano, A. M., Lanphear, B. P. (2012). Associations of prenatal exposure to organophosphate pesticide metabolites with gestational age and birth weight. *Environ Health Perspect, 120*(7), 1055-1060. doi: 10.1289/ehp.1104615

Rauh, V., Arunajadai, S., Horton, M., Perera, F., Hoepner, L., Barr, D. B. et Whyatt, R. (2011). Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environ Health Perspect, 119*(8), 1196-1201. doi: 10.1289/ehp.1003160

Rauh, V. A., Garcia, W. E., Whyatt, R. M., Horton, M. K., Barr, D. B. et Louis, E. D. (2015). Prenatal exposure to the organophosphate pesticide chlorpyrifos and childhood tremor. *Neurotoxicology, 51*, 80-86. doi: 10.1016/j.neuro.2015.09.004

Rauh, V. A., Garfinkel, R., Perera, F. P., Andrews, H. F., Hoepner, L., Barr, D. B., Whyatt, R. W. (2006). Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics, 118*(6), e1845-1859. doi: 10.1542/peds.2006-0338

Rauh, V. A. et Margolis, A. E. (2016). Research Review: Environmental exposures, neurodevelopment, and child mental health - new paradigms for the study of brain and behavioral effects. *J Child Psychol Psychiatry, 57*(7), 775-793. doi: 10.1111/jcpp.12537

Rauh, V. A., Perera, F. P., Horton, M. K., Whyatt, R. M., Bansal, R., Hao, X., Peterson, B. S. (2012). Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proc Natl Acad Sci U S A, 109*(20), 7871-7876. doi: 10.1073/pnas.1203396109

Rhainds, M., Levallois, P., Dewailly, E. et Ayotte, P. (1999). Lead, mercury, and organochlorine compound levels in cord blood in Quebec, Canada. *Arch Environ Health, 54*(1), 40-47.

Ribas-Fito, N., Cardo, E., Sala, M., Eulalia de Muga, M., Mazon, C., Verdu, A., Sunyer, J. (2003). Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics, 111*(5 Pt 1), e580-585.

Ribas-Fito, N., Torrent, M., Carrizo, D., Julvez, J., Grimalt, J. O. et Sunyer, J. (2007). Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy and children's social behavior at 4 years of age. *Environ Health Perspect, 115*(3), 447-450. doi: 10.1289/ehp.9314

Ribas-Fito, N., Torrent, M., Carrizo, D., Munoz-Ortiz, L., Julvez, J., Grimalt, J. O. et Sunyer, J. (2006). In utero exposure to background concentrations of DDT and cognitive functioning among preschoolers. *Am J Epidemiol, 164*(10), 955-962. doi: 10.1093/aje/kwj299

Rice, D. et Barone, S., Jr. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect, 108 Suppl 3*, 511-533.

Rice, D. C. (1998). Issues in developmental neurotoxicology: interpretation and implications of the data. *Can J Public Health, 89 Suppl 1*, S31-36, S34-40.

Riva, E., Grandi, F., Massetto, N., Radaelli, G., Giovannini, M., Zetterstrom, R. et Agostoni, C. (2004). Polychlorinated biphenyls in colostral milk and visual function at 12 months of life. *Acta Paediatr, 93*(8), 1103-1107.

Rogan, W. J. et Gladen, B. C. (1991). PCBs, DDE, and child development at 18 and 24 months. *Ann Epidemiol, 1*(5), 407-413.

Rogan, W. J., Gladen, B. C., McKinney, J. D., Carreras, N., Hardy, P., Thullen, J., Tully, M. (1986). Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. *J Pediatr, 109*(2), 335-341.

Romieu, I., Hernandez-Avila, M., Lazcano-Ponce, E., Weber, J. P. et Dewailly, E. (2000). Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol, 152*(4), 363-370.

Sagiv, S. K., Nugent, J. K., Brazelton, T. B., Choi, A. L., Tolbert, P. E., Altshul, L. M. et Korrick, S. A. (2008). Prenatal organochlorine exposure and measures of behavior in infancy using the Neonatal Behavioral Assessment Scale (NBAS). *Environ Health Perspect, 116*(5), 666-673. doi: 10.1289/ehp.10553

Sagiv, S. K., Thurston, S. W., Bellinger, D. C., Tolbert, P. E., Altshul, L. M. et Korrick, S. A. (2010). Prenatal organochlorine exposure and behaviors associated with attention deficit hyperactivity disorder in school-aged children. *Am J Epidemiol, 171*(5), 593-601. doi: 10.1093/aje/kwp427

Saint-Amour, D., Roy, M. S., Bastien, C., Ayotte, P., Dewailly, E., Despres, C., Muckle, G. (2006). Alterations of visual evoked potentials in preschool Inuit children exposed to methylmercury and polychlorinated biphenyls from a marine diet. *Neurotoxicology, 27*(4), 567-578. doi: 10.1016/j.neuro.2006.02.008

Saint-Amour, D., Saron, C. D., Schroeder, C. E. et Foxe, J. J. (2005). Can whole brain nerve conduction velocity be derived from surface-recorded visual evoked potentials? A re-examination of Reed, Vernon, and Johnson (2004). *Neuropsychologia, 43*(12), 1838-1844. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2005.02.010

Sala, M., Ribas-Fito, N., Cardo, E., de Muga, M. E., Marco, E., Mazon, C., Sunyer, J. (2001). Levels of hexachlorobenzene and other organochlorine compounds in cord blood: exposure across placenta. *Chemosphere, 43*(4-7), 895-901.

Shen, H., Main, K. M., Andersson, A. M., Damgaard, I. N., Virtanen, H. E., Skakkebaek, N. E., Schramm, K. W. (2008). Concentrations of persistent organochlorine compounds in human milk and placenta are higher in Denmark than in Finland. *Hum Reprod, 23*(1), 201-210. doi: dem199 [pii] 10.1093/humrep/dem199

Shinomiya, N. et Shinomiya, M. (2003). Dichlorodiphenyltrichloroethane suppresses neurite outgrowth and induces apoptosis in PC12 pheochromocytoma cells. *Toxicol Lett, 137*(3), 175-183.

Simpson, W. M., Jr. et Schuman, S. H. (2002). Recognition and management of acute pesticide poisoning. *Am Fam Physician, 65*(8), 1599-1604.

Sjodin, A., Wong, L. Y., Jones, R. S., Park, A., Zhang, Y., Hodge, C., Patterson, D. G., Jr. (2008). Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyl (PBB) in the United States population: 2003-2004. *Environ Sci Technol, 42*(4), 1377-1384.

Slotkin, T. A. (2004). Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. *Toxicol Appl Pharmacol, 198*(2), 132-151. doi: 10.1016/j.taap.2003.06.001

Slotkin, T. A., Levin, E. D. et Seidler, F. J. (2006). Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: effects on brain development are separable from systemic toxicity. *Environ Health Perspect, 114*(5), 746-751.

Slotkin, T. A. et Seidler, F. J. (2007). Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates in vivo: transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. *Brain Res Bull, 72*(4-6), 232-274. doi: 10.1016/j.brainresbull.2007.01.005

Slotkin, T. A., Seidler, F. J. et Fumagalli, F. (2007). Exposure to organophosphates reduces the expression of neurotrophic factors in neonatal rat brain regions: similarities and differences in the effects of chlorpyrifos and diazinon on the fibroblast growth factor superfamily. *Environ Health Perspect, 115*(6), 909-916. doi: 10.1289/ehp.9901

Slotkin, T. A., Tate, C. A., Ryde, I. T., Levin, E. D. et Seidler, F. J. (2006). Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. *Environ Health Perspect, 114*(10), 1542-1546.

Sokoloff, K., Fraser, W., Arbuckle, T. E., Fisher, M., Gaudreau, E., LeBlanc, A., Bouchard, M. F. (2016). Determinants of urinary concentrations of dialkyl phosphates among pregnant women in Canada - Results from the MIREC study. *Environ Int, 94*, 133-140. doi: 10.1016/j.envint.2016.05.015

Srivastava, S., Singh, A., Shukla, R. K., Khanna, V. K. et Parmar, D. (2015). Effect of prenatal exposure of lindane on alterations in the expression of cerebral cytochrome P450s and neurotransmitter receptors in brain regions. *Food Chem Toxicol, 77*, 74-81. doi: 10.1016/j.fct.2014.12.010

Stein, L. J., Gunier, R. B., Harley, K., Kogut, K., Bradman, A. et Eskenazi, B. (2016). Early childhood adversity potentiates the adverse association between prenatal organophosphate pesticide exposure and child IQ: The CHAMACOS cohort. *Neurotoxicology, 56*, 180-187. doi: 10.1016/j.neuro.2016.07.010

Sturza, J., Silver, M. K., Xu, L., Li, M., Mai, X., Xia, Y., Meeker, J. (2016). Prenatal exposure to multiple pesticides is associated with auditory brainstem response at 9months in a cohort study of Chinese infants. *Environ Int, 92-93*, 478-485. doi: 10.1016/j.envint.2016.04.035

Sudakin, D. L. et Stone, D. L. (2011). Dialkyl phosphates as biomarkers of organophosphates: the current divide between epidemiology and clinical toxicology. *Clin Toxicol (Phila), 49*(9), 771-781. doi: 10.3109/15563650.2011.624101

Tan, J., Loganath, A., Chong, Y. S. et Obbard, J. P. (2009). Exposure to persistent organic pollutants in utero and related maternal characteristics on birth outcomes: a multivariate data analysis approach. *Chemosphere, 74*(3), 428-433. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.09.045

Thompson, C. C. et Potter, G. B. (2000). Thyroid hormone action in neural development. *Cereb Cortex, 10*(10), 939-945.

Torres-Sanchez, L., Rothenberg, S. J., Schnaas, L., Cebrian, M. E., Osorio, E., Del Carmen Hernandez, M., Lopez-Carrillo, L. (2007). In utero p,p'-DDE exposure and infant neurodevelopment: a perinatal cohort in Mexico. *Environ Health Perspect, 115*(3), 435-439. doi: 10.1289/ehp.9566

Torres-Sanchez, L., Schnaas, L., Cebrian, M. E., Hernandez Mdel, C., Valencia, E. O., Garcia Hernandez, R. M. et Lopez-Carrillo, L. (2009). Prenatal dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) exposure and neurodevelopment: a follow-up from 12 to 30 months of age. *Neurotoxicology, 30*(6), 1162-1165. doi: 10.1016/j.neuro.2009.08.010

Torres-Sanchez, L., Schnaas, L., Rothenberg, S. J., Cebrian, M. E., Osorio-Valencia, E., Hernandez Mdel, C., Lopez-Carrillo, L. (2013). Prenatal p,p -DDE exposure and neurodevelopment among children 3.5-5 years of age. *Environ Health Perspect, 121*(2), 263-268. doi: 10.1289/ehp.1205034

Université McGill. *Le cerveau à tous les niveaux*. Récupéré le 10 octobre 2016 de http://lecerveau.mcgill.ca/flash/i/i_09/i_09_cr/i_09_cr_dev/i_09_cr_dev.html

Vale, C., Fonfria, E., Bujons, J., Messeguer, A., Rodriguez-Farre, E. et Sunol, C. (2003). The organochlorine pesticides gamma-hexachlorocyclohexane (lindane), alpha-endosulfan and dieldrin differentially interact with GABA(A) and glycine-gated chloride channels in primary cultures of cerebellar granule cells. *Neuroscience, 117*(2), 397-403.

Valvi, D., Mendez, M. A., Martinez, D., Grimalt, J. O., Torrent, M., Sunyer, J. et Vrijheid, M. (2012). Prenatal concentrations of polychlorinated biphenyls, DDE, and DDT and overweight in children: a prospective birth cohort study. *Environ Health Perspect, 120*(3), 451-457. doi: 10.1289/ehp.1103862

Veillerette, F. (2003). *Pesticides, le piège se referme*. Mens: Terre vivante.

Vizcaino, E., Grimalt, J. O., Fernandez-Somoano, A. et Tardon, A. (2014). Transport of persistent organic pollutants across the human placenta. *Environ Int, 65*, 107-115. doi: 10.1016/j.envint.2014.01.004

Waksman, J. C. et Brody, A. (2007). Contrast sensitivity in occupational and environmental neurotoxicology: what does it really mean? *Arch Environ Occup Health, 62*(4), 177-181. doi: 10.3200/AEOH.62.4.177-181

Wang, R. Y., Jain, R. B., Wolkin, A. F., Rubin, C. H. et Needham, L. L. (2009). Serum concentrations of selected persistent organic pollutants in a sample of pregnant females and changes in their concentrations during gestation. *Environ Health Perspect, 117*(8), 1244-1249. doi: 10.1289/ehp.0800105

Weiss, B. (1997). Pesticides as a source of developmental disabilities. *Mental retardation and developmental disabilities research review, 3*, 246-256

Weiss, B. (2011). Endocrine disruptors as a threat to neurological function. *J Neurol Sci, 305*(1-2), 11-21. doi: 10.1016/j.jns.2011.03.014

Weldon, R. H., Barr, D. B., Trujillo, C., Bradman, A., Holland, N. et Eskenazi, B. (2011). A pilot study of pesticides and PCBs in the breast milk of women residing in urban and agricultural communities of California. *J Environ Monit, 13*(11), 3136-3144. doi: 10.1039/c1em10469a

Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D. et David, C. (2009). Agroecology as a science, a ;movement and a practice. A review. *Agronomy for sustainable development, 29*(4), 503-515. doi: http://dx.doi.org/10.1051/agro/2009004

Whyatt, R. M. et Barr, D. B. (2001). Measurement of organophosphate metabolites in postpartum meconium as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect, 109*(4), 417-420.

Whyatt, R. M., Barr, D. B., Camann, D. E., Kinney, P. L., Barr, J. R., Andrews, H. F., Perera, F. P. (2003). Contemporary-use pesticides in personal air samples during pregnancy and blood samples at delivery among urban minority mothers and newborns. *Environ Health Perspect, 111*(5), 749-756.

Whyatt, R. M., Camann, D., Perera, F. P., Rauh, V. A., Tang, D., Kinney, P. L., .Barr, D. B. (2005). Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth. *Toxicol Appl Pharmacol, 206*(2), 246-254. doi: 10.1016/j.taap.2004.11.027

Whyatt, R. M., Camann, D. E., Kinney, P. L., Reyes, A., Ramirez, J., Dietrich, J., Perera, F. P. (2002). Residential pesticide use during pregnancy among a cohort of urban minority women. *Environ Health Perspect, 110*(5), 507-514.

Whyatt, R. M., Rauh, V., Barr, D. B., Camann, D. E., Andrews, H. F., Garfinkel, R., Perera, F. P. (2004). Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ Health Perspect, 112*(10), 1125-1132.

Yolton, K., Xu, Y., Sucharew, H., Succop, P., Altaye, M., Popelar, A., Khoury, J. C. (2013). Impact of low-level gestational exposure to organophosphate pesticides on neurobehavior in early infancy: a prospective study. *Environ Health, 12*(1), 79. doi: 10.1186/1476-069X-12-79

Young, J. G., Eskenazi, B., Gladstone, E. A., Bradman, A., Pedersen, L., Johnson, C., Holland, N. T. (2005). Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates. *Neurotoxicology, 26*(2), 199-209. doi: 10.1016/j.neuro.2004.10.004

Zhang, X., Driver, J. H., Li, Y., Ross, J. H. et Krieger, R. I. (2008). Dialkylphosphates (DAPs) in fruits and vegetables may confound biomonitoring in organophosphorus insecticide exposure and risk assessment. *J Agric Food Chem, 56*(22), 10638-10645. doi: 10.1021/jf8018084